

ІНСТИТУТ ПРОДОВОЛЬЧИХ РЕСУРСІВ
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ» імені ІГОРЯ
СІКОРСЬКОГО» МОН УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

Даниленко Світлана Григорівна

УДК 636.5.033: 636.08.003:579.676:579.262

ДИСЕРТАЦІЯ

**НАУКОВЕ ОБҐРУНТУВАННЯ РОЗРОБКИ БІОТЕХНОЛОГІЇ
ІННОВАЦІЙНИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ПОЛІПШЕННЯ СПОЖИВЧИХ
ЯКОСТЕЙ М'ЯСНИХ ПРОДУКТІВ**

Подається на здобуття наукового ступеня наукового ступеня доктора
технічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело:
_____ С.Г. Даниленко

Науковий консультант: **Кігель Наталя Федорівна**, доктор технічних
наук.

Київ - 2018

АНОТАЦІЯ

Даниленко Світлана Григорівна. Наукове обґрунтування розробки біотехнологій інноваційних препаратів для підвищення споживчих якостей м'ясних продуктів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертаційна робота на здобуття наукового ступеня доктора технічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. – Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» МОН України, 2018. Дисертаційна робота виконана в Інституті продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук України.

Досліджено мікробіоту сільськогосподарських тварин (телят, поросят та птиці). Встановлено, що у різних тварин її склад є істотно відмінним: у поросят та телят переважали лактобактерії видів *L. plantarum* та *L. acidophilum*, які склали по 21 % від всіх вивчених штамів, серед біфідобактерій у поросят переважав вид *B. longum* (13,8%), у телят – *B. infantis* (17,2 %) у птиці – види *B. pullorum* та *B. gallinarum* (загалом 12,6 %).

У рамках дисертаційної роботи вивчено пробіотичні властивості штамів лакто- та біфідобактерій, ізольованих з біологічного матеріалу сільськогосподарських тварин; визначено перспективність їхнього промислового застосування, а також технологічні властивості молочнокислих бактерій (МКБ), мікрококів і стафілококів, вилучених з ферментованих м'ясних продуктів. Перевірка пробіотичних властивостей лакто- та біфідобактерій показала, що вони мали штамоспецифічні ознаки. Колекцію промислових мікроорганізмів Інституту продовольчих ресурсів НААН поповнено 10 новими штамми, що задовольняють вимоги до пробіотиків, а саме штамми: *Bifidobacterium gallinarum*, *B. pullorum*, *B. suis*, *B. infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* та *L. paracasei ssp. paracasei*. На основі зазначених штамів розроблено поліфункціональні добавки для поросят – БК-П (*B. infantis* 4302, *B. suis* 4500, *L. acidophilus* 3137, *L. plantarum* 3207), телят – БК-Т (*B. infantis* 4302, *B. animalis* 4506, *L.*

acidophilus 3127, *L. paracasei* ssp. *paracasei* 3800) і птиці – БК-Пт (*B. pullorum*, *L. plantarum* 3207, *L. paracasei* ssp. *paracasei* 3801, *L. rhamnosus* 3333).

Опрацьовано режими та параметри біотехнології функціональних біодобавок: склад та якість інокуляту; рецептури економічно перспективних поживних середовищ, до яких уперше залучено премікси з високою рістстимулювальною активністю ФІЗ та Три-Соль; культивування з підживленням культуральної рідини глюкозою, що дозволило подовжити фазу активного росту культури та забезпечити узгоджений ріст мікроорганізмів. Також встановлено склад ефективного захисного середовища, що дозволяє зберегти 96-98 % біомаси за умови його раціональної витрати (1 од. середовища на 2 од. сирової біомаси). Встановлене раціональне співвідношення між складниками бактеріальної композиції дозволило досягти високої чисельності біологічно активних мікроорганізмів у готовому біопрепараті – 10^{11} КУО/г та подовжити термін зберігання функціональних добавок на 6 місяців.

Доведено безпечність та економічну ефективність розроблених функціональних біодобавок нового покоління для молодняку сільськогосподарських тварин: великої рогатої худоби – БК-Т, свиней – БК-П та птиці – БК-Птиця.

Клінічними дослідженнями встановлено, що функціональні добавки є ефективними засобами профілактики шлунково-кишкових захворювань сільськогосподарських тварин та птиці. Їхнє застосування позитивно впливає на кровотворну систему, поліпшує білковий обмін завдяки зростанню концентрації загального протеїну, сприяє підвищенню середньодобового приросту маси тіла. Функціональні добавки забезпечують швидке становлення нормального кишкового біоценозу тварин, стимулюючи активний ріст популяції лактобактерій, біфідобактерій, ентерококів та інших його облигатних представників.

Покращення споживчих властивостей м'ясної сировини досягається

завдяки підвищеному вмісту протеїну та вмісту сухої речовини.

Експериментальним шляхом встановлено раціональну дозу функціональної добавки для кожного виду тварин.

Показано, що введення функціональної добавки БК-Т у дозі 0,5 см³ білим щурам не призводить до загибелі тварин і не впливає на масові коефіцієнти внутрішніх органів, що дозволяє характеризувати її як практично нетоксичну (V клас токсичності) відповідно до загальноприйнятої токсикологічної класифікації речовин. Тривале ведення зазначеної добавки у терапевтичній дозі не впливало на функціональний стан внутрішніх органів.

Досліджено мікрофлору вітчизняних м'ясних сиров'ялених та сирокочених продуктів, вироблених за традиційними технологіями, і виявлено мікроорганізми, що домінують у її складі. У сиров'яленій яловичині превалювали такі групи мікроорганізмів: МКБ – $(5,01 \times 10^4 - 1,28 \times 10^6)$ КУО/г, каталазопозитивні коки (КПК) – $(3,98 \times 10^3 - 1,78 \times 10^4)$ КУО/г; у сиров'ялених продуктах зі свинини: МКБ – $(2,5 \times 10^3 - 1,6 \times 10^6)$ КУО/г, КПК – $(5,0 \times 10^3 - 6,3 \times 10^5)$ КУО/г; у сирокочених зі свинини: МКБ – $(2,5 \times 10^3 - 2,5 \times 10^4)$ КУО/г, КПК – $(1,0 - 7,9) \times 10^3$ КУО/г; у сирокочених з яловичини: МКБ – $(3,2 \times 10^2 - 1,0 \times 10^6)$ КУО/г, КПК – $(1,0 \times 10^3 - 6,3 \times 10^4)$ КУО/г; у сирокочених з курятини: МКБ – $(1,8 \times 10^3 - 1,25 \times 10^5)$ КУО/г, КПК – $(1,9 \times 10^3 - 1,6 \times 10^4)$ КУО/г.

Обґрунтовано критерії та методи селекції мікробіоти вітчизняних сирокочених та сиров'ялених виробів з різних видів м'яса, ідентифіковано 10 штамів роду *Lactobacillus*, *Micrococcus* та *Staphylococcus*, застосовуваних для ферментування м'ясної сировини. Опрацьовано співвідношення компонентів композицій, встановлено раціональні умови нагромадження біомаси бактеріальних препаратів, умови її консервування та зберігання, проведено лабораторні виробки сиров'ялених продуктів зі свинини.

Для чотирьох штамів стафілококів та мікрококів були проведені дослідження патогенних властивостей на тваринних моделях (безпорідних білих мишах), за результатами яких визначено, що 3 штами належали до 4-го класу, тобто до “мало небезпечних, практично без алергенної та

загальнотоксичної дії”, а один штам *M. varians* було віднесено до 3-го класу, який об’єднує непатогенні штами, “помірно небезпечні з сильною загальнотоксичною чи алергічною дією”.

Для ферментування м’ясної сировини створено бактеріальні препарати наступного складу: “ЛРР” – *L. rhamnosus* (3304 + 3305) + *Kocuria rosea* 5401 (2:2:2) та “КПК” – *L. casei* (3321+ 3322) + *L. plantarum* 3201 + *Kocuria rosea* 5400 (1:1:2:2). Опрацьовано раціональні режими технологічного процесу промислового виробництва зазначених бактеріальних препаратів: температура ($32 \pm 0,5$) °С, рН 6,2-6,5, тривалість культивування (14 ± 1) год з двостадійним внесення інокуляту і підживленням глюкозою. Все це дозволило отримати з 1 дм³ поживного середовища (7,5-6,7) г сухого препарату з чисельністю $(7,5-8,7) \times 10^{10}$ КУО/г молочнокислих бактерій та $(3,6-5,0) \times 10^9$ КУО/г мікрококів.

Ефективність застосування препаратів було перевірено у виробництві сиров’ялених продуктів зі свинини згідно з рецептурою балику «Дарницького». Внесення бактеріальних препаратів у м’ясну сировину забезпечувало зростання чисельності лактобактерій та мікрококів за інтенсивного зниження чисельності бактерій групи кишкової палички. Досліджено закономірності функціонування бактеріальних препаратів, показано вплив їхнього застосування на формування органолептичних, мікробіологічних і фізико-хімічних показників готових сиров’ялених продуктів. Упродовж всього процесу визрівання кислотність у баликах з препаратом була вищою, ніж у контролі, кількість нітритів швидко знижувалася. За оцінкою дегустаційної комісії баликові вироби з препаратом “КПП” отримали вищу оцінку – продукти з новим препаратом були м’які та пружні за консистенцією, з інтенсивнішим забарвленням.

Показано, що додавання бактеріальних препаратів “КПК” та “ЛРР” у м’ясну сировину скорочує тривалість технологічного циклу на 3-4 доби, забезпечує високий ступінь санітарно-епідемічної безпеки готового продукту: відсутність умовно-патогенних, патогенних мікроорганізмів та

низький вміст залишкових нітритів, гарантує набуття відмінних органолептичних характеристик.

Інноваційні біотехнології функціональних добавок для сільськогосподарських тварин та бактеріальних препаратів для ферментування м'ясної сировини впроваджено у виробництво на Державному дослідному підприємстві Інституту продовольчих ресурсів НААН.

Функціональні добавок апробовано в промислових умовах господарств:

БК-Пт на НВП «УКРВАК», Київська обл., Броварський р-н, с. Княжичі;

БК-П у ФГ «Вітас іК», Полтавська обл., на ДП «ДГ «Степне» Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН, Полтавська обл., та свинокомплексі «Мар'янівський», с. Мар'янівка, Лисянського р-ну Черкаської обл; БК –Т у ФГ «Вітас іК», Полтавська обл.

Розроблено та затверджено 3 ДСТУ та 2 ТУ У: 1. Даниленко С.Г. М'ясо та м'ясні продукти. Організація та методи мікробіологічних досліджень (ДСТУ 8381:2015) / С.Г. Даниленко, Н.Ф. Кігель, Г.В. Козловська, І.В. Панасюк. – [Чинний від 2017 – 01 – 07]. – К.: Держспоживстандарт України, 2015. – 48 с.; 2. Романчук І.О. Вироби ковбасні та продукти з м'яса. Методи визначення мікробного забруднення (ДСТУ 8720:2017). / І.О. Романчук, С.Г.Даниленко, Н.Ф. Кігель. – [Чинний від 2019 – 01 – 01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2017; 3. Єресько Г.О. Молоко, молочні продукти та закваски. Метод визначання кількості біфідобактерій. (ДСТУ 7355:2013) / Г.О.Єресько, С.Г.Даниленко, Ц.О. Король, Н.Ф. Кігель, Г.Г. Борщ. [Чинний від 2014 – 01 – 01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2014. – 18 с.

На підставі отриманих результатів розроблено біотехнології бактеріальних препаратів прямого внесення “ЛРР” та “КПК” для ферментації м'ясної сировини (ТУ У 15.5-00419880-101-2010 Препарати бактеріальні для виробництва ферментованих м'ясних продуктів) та пробіотиків для тварин

(ТУ У 10.9-00419880-136:2017 Пробиотики «ТІММ» для сільськогосподарських тварин. Технічні умови), які є перспективними щодо впровадження у виробництво на біотехнологічних і м'ясопереробних підприємствах, у тваринницьких господарствах України тощо.

Робота є результатом самостійних досліджень С.Г. Даниленко. Автором особисто відібрано і критично проаналізовано вітчизняну та зарубіжну наукову літературу за темою дослідження. Основні положення та результати дисертаційної роботи повністю викладені у 82 працях серед яких: 23 статті у наукових фахових виданнях (з них 7 статей у вітчизняних журналах, які представлено у міжнародних наукометричних базах даних, 4 статті у наукових виданнях інших країн), 7 патентів на винахід, 1 патент на корисну модель, 18 статей у інших наукових виданнях, 1 методичні вказівки, 4 нормативні документи, 23 публікації у збірниках матеріалів і тез конференцій.

Ключові слова: пробиотик, мікрококи, стафілококи, бактеріальний препарат, ферментовані м'ясні продукти, функціональні добавки, пробіотичні властивості, біфідобактерії, молочнокислі бактерії, критерії відбору.

SUMMARY

Danylenko S. G. Scientific substantiation of development of biotechnologies of innovative preparations for improving consumer qualities of meat products. - Qualifying scientific work as a manuscript.

Thesis for a Doctor of Technical Sciences degree in specialty 03.00.20 - Biotechnology. - National Technical University of Ukraine "Kyiv Polytechnic Institute named after Igor Sikorsky", Ministry of Education and Science of Ukraine, 2018. The dissertation was performed at the Institute of Food Resources of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine.

The microbiot of farm animals (calves, piglets and poultry) was investigated. It has been established that its composition varies significantly in different animals, namely, in pigs and calves, *Lactobacillus* species of *L. plantarum* and *L. acidophilum* prevail, which comprised 21% of all studied strains; in piglets, Bifidobacteria of the species *B. longum* (13,8 %), in calves *B. infantis* (17,2%) in the poultry - *B. pullorum* and *B. gallinarum* (12,6%).

In the dissertation the probiotic properties of strains of lactobacilli and bifidobacteria isolated from biological material of farm animals were studied; the promise of their industrial application, as well as the technological properties of lactobacilli together with micrococci and staphylococci isolated from fermented meat products, were determined. Testing of probiotic properties of lactobacilli and bifidobacteria confirmed that they are strain-specific traits. The collection of industrial microorganisms of the Institute of Food Resources of NAAS has been replenished with 10 new strains satisfying the requirements for probiotics, namely: *Bifidobacterium gallinarum*, *B. pullorum*, *B. suis*, *B. infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* and *L. paracasei ssp paracasei*. On the basis of these strains, polyfunctional supplements for piglets - BK-P (*B. infantis* 4302, *B. suis* 4500, *L. acidophilus* 3127, *L. plantarum* 3207), calves - BC-T (*B. infantis* 4302, *B. annalis* 4506, *L. acidophilus* 3137, *L. paracasei ssp. paracasei* 3800) and poultry - BK-Pt (*B. pullorum* 4601, *L. plantarum* 3207, *L. paracasei ssp. paracasei* 3801i, *L. rhamnosus* 3333) were developed.

Modes and parameters of biotechnology of functional dietary supplements were worked out: composition and quality of inoculum; formulations of economically promising culture media, for which FIZ and Tri-Sol premixes of high growth-stimulating activity were first introduced; cultivating with culture fluid supplemented with glucose, which allowed to prolong the phase of active growth of the culture and to ensure consistent growth of microorganisms; the composition of the effective protective medium and its amount per unit of crude biomass (1:2) was established, which allows to maintain 96-98 % of biomass, to achieve the necessary ratio between the components of the bacterial composition and a high number of biologically active microorganisms in the finished biologic preparation - 10^{11} CFU/g as well as to extend the term of storage of functional supplements for 6 months.

The safety and economic efficiency of the developed functional biologic additives of the new generation for young farm animals: cattle BK-T, pig - BK-P and poultry - BK-Bird are proved.

Clinical studies let it conclude that functional supplements are effective means to prevent gastrointestinal diseases of farm animals and poultry. Their application positively affects the hematopoietic system, improves protein metabolism as a result of the increase in the concentration of total protein, contributes to an increase in average daily gain of the body mass. Functional supplements provide rapid formation of normal intestinal biocenosis of animals, stimulating the active growth of the population of lactobacilli, bifidobacteria, enterococci and other its obligated representatives.

Improvement of the consumer properties of meat raw material is achieved due to increased protein content and dry matter content.

A rational dose of a functional additive for each animal species is established experimentally.

It was shown that the administration of the functional additive BK-T in a dose of 0.5 cm^3 in white rats did not lead to death of animals and did not affect the mass coefficients of internal organs so BK-T can be characterized as practically

non-toxic (Class V toxicity) in accordance with the generally accepted toxicological classification of substances. Prolonged administration of the functional additive in the therapeutic dose did not affect the functional state of the internal organs.

The microflora of domestic raw dried and raw smoked meat products produced by traditional technology was investigated, and the following groups of microorganisms dominated in its composition: in raw dried beef: lactobacilli (LB) - ($5,01 \times 10^4$ - $1,28 \times 10^6$) CFU/g, LB - ($3,98 \times 10^3$ - $1,78 \times 10^4$) CFU/g; in raw dried pork: LB - ($2,5 \times 10^3$ - $1,6 \times 10^6$) CFU/g, ($5,0 \times 10^3$ - $6,3 \times 10^5$) CFU/g; in raw smoked pork: LB - ($2,5 \times 10^3$ - $2,5 \times 10^4$) CFU/g, KPK - ($1,0$ - $7,9$) $\times 10^3$ CFU/g; in raw dried beef: LB - ($3,2 \times 10^2$ - $1,0 \times 10^6$) CFU/g, KPK - ($1,0 \times 10^3$ - $6,3 \times 10^4$) CFU/g; in raw smoked chickens: LB - ($1,8 \times 10^3$ - $1,25 \times 10^5$) CFU/g, KPK - ($1,9 \times 10^3$ - $1,6 \times 10^4$) CFU/g.

The criteria and methods of selection of microbiota of domestic raw dried and raw smoked products from different types of meat were substantiated, 10 strains of the genus *Lactobacillus*, *Micrococcus* and *Staphylococcus* were identified for fermentation of meat raw material. The correlation between components of compositions and rational conditions for accumulation of biomass of bacterial preparations were worked out, conditions for preservation and storage of biomass together with laboratory experiments on raw dried pork products were carried out.

For the four strains of staphylococci and micrococcus, pathogenic properties were studied on animal models (outbred white mice), according to the results of which it was determined that 3 strains belonged to the 4th grade, that is to those "very dangerous, practically free of allergenic and general toxic effects," and one strain *M. varians* was attributed to the third grade, which combines nonpathogenic ones, "moderately dangerous with a strong general toxicity or allergic effect".

The bacterial preparations of the following composition were created: "LRR" - *L. rhamnosus* (3304 + 3305) + *Kocuria rosea* 5401 (2: 2: 2) and "KPK" - *L. casei* (3321 + 3322) + *L. plantarum* 3201 + *Kocuria rosea* 5400 (1: 1: 2: 2),

capable of development in meat raw material. The rational regimes of the technological process of industrial production of bacterial preparations for fermentation of meat raw material were studied: temperature ($32 \pm 0,5$) °C, pH 6,2-6,5, duration of cultivation (14 ± 1) h with two-stage inoculation and feeding with glucose. All this allowed getting (7,5-6,7) g of dry preparation from 1 dm³ of nutrient medium with the number $(7,5-8,7) \times 10^{10}$ CFU/g of lactic acid bacteria and $(3,6-5,0) \times 10^9$ CU/g of micrococcus.

The effectiveness of the use of preparations was checked in the production of raw dried pork products in accordance with the formulation of "Darnitsky" fillet. The introduction of bacterial preparations into meat raw materials led to an increase in the number of lactobacilli and micrococci and an intensive decrease in the number of coliform bacteria. The regularities of the functioning of bacterial preparations were investigated, the effect on the formation of sensorial, microbiological, physical and chemical indices of finished raw dried products made with their application is shown. Throughout the whole process of maturation, acidity in the fillets with the preparations was higher than in the control and rapid reduction in the amount of nitrites. According to the sensorial panel, fillet products with the preparation "LLR" were highly evaluated: the texture of the products new preparation was soft and elastic in consistency, their color was more intense.

It is shown that the addition of bacterial preparations "KPK" and "LRR" in meat raw materials shortens the technological cycle by 3-4 days, provides a high degree of sanitary and epidemic safety of the finished product: the absence of opportunistic pathogens, pathogenic microorganisms and low content of residual nitrites, ensures the acquisition of excellent sensorial characteristics.

Innovative biotechnologies of functional additives for farm animals and bacterial preparations for fermentation of meat raw material have been introduced into production at the State Research Enterprise of the Institute of Food Resources of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine.

Functional additives are approved in industrial conditions of enterprises:

BK-Pt at the scientific and production enterprise "UKRVAK", Kniazhychi, Brovary district, Kyiv region;

BK-P on "Vitas IC" farm, Poltava region, State Enterprise "Experimental Farm "Stepne" of the Institute of Pig Breeding and Agro-Industrial Production of the National Academy of Sciences of Ukraine, Poltava region, and at the Marianovskii Pig Breeding Complex, Marianivka, Lysianka district, Cherkasy region; BK-T on "Vitas IC" farm, Poltava region.

3 DSTU National Standards and 2 TU U Specifications were developed and approved: 1. Danylenko S.G. Meat and meat products. Organization and methods of microbiological research (DSTU 8381: 2015) / S.G. Danylenko, N.F. Kigel, G.V. Kozlovska, I.V. Panasyuk - [Effective from 2017 - 01 - 07]. - K. : Derzhspozhyvstandart of Ukraine, 2015 - 48 s.; 2. Romanchuk I.O. Sausage products and meat products. Methods of determination of microbial contamination (DSTU 8720: 2017). / I.O. Romanchuk, S.G. Danylenko, N.F. Kigel - [Effective from 2019 - 01 - 01]. - K.: Derzhspozhyvstandart of Ukraine, 2017; 3. Yeresko G.O. Milk, dairy products and starter cultures. Method for determining the amount of bifidobacteria. (DSTU 7355: 2013) / G.O. Yeresko, S.G. Danylenko, Ts.O. King, N.F. Kigel, G.G. Borsch. [Effective from 2014 - 01 - 01]. - K. : Derzhspozhyvstandart of Ukraine, 2014 - 18 p.

On the basis of the obtained results, biotechnologies of bacterial preparations of direct application "LRR" and "KPK" for fermentation of meat raw material (TU U 15.5-00419880-101-2010 Bacterial preparations for the production of fermented meat products) and probiotics for animals (TU U 10.9-00419880-136: 2017 "TIMM probiotics for farm animals. Specifications); regulatory documents are promising for the transfer to production at biotechnological and meat processing plants and farms of Ukraine.

The author personally selected and critically analyzed domestic and foreign scientific literature on the subject of research. The work is the result of independent studies by S. G. Danylenko. The main provisions and results of the dissertation work are fully described in 82 works including: 23 articles in the

scientific journals (including 7 articles in national journals, presented in international scientometric databases, 4 articles in scientific publications of other countries), 7 patents for the invention, 1 patent for utility model, 18 articles in other scientific editions, 1 methodical instructions, 4 normative documents, 23 materials and theses of reports in conference collections.

Key words: probiotic, micrococci, staphylococci, bacterial preparation, fermented meat products, functional additives, probiotic properties, bifidobacteria, lactobacteria, selection criteria.

Список публікацій здобувача

1. **Даниленко С.Г.** Вплив преміксів на розвиток штамів молочнокислих та біфідобактерій / С.Г. Даниленко. //Продовольча Індустрія АПК – 2014. - № 1. – с.28-32.
2. **Даниленко С.** Функціональна добавка БК-П для поросят / С. Даниленко // Продовольча індустрія АПК – 2014. - № 2. – с.40-42
3. **Panasiuk I.** Screening strains for fermentation of meet raw material / I. Panasiuk, S. Danylenko, G. Cherednichenko // **Ukrainian Food Journal – 2014. –v. 2, № 1. – P. – 29-34.**
4. **Даниленко С.Г.** Використання новоствореної бактеріальної композиції у виробництві м'ясних продуктів / С.Г. Даниленко, Л.П. Недорізанюк // Продовольча індустрія АПК. – 2014. - № 6. – 29-33.
5. **Даниленко С.Г** Яловичини буде більше, якщо корми з функціональною добавкою / С.Г. Даниленко // Продовольча Індустрія АПК – 2014. - № 3. – с.28-31.
6. **Гарда С.О.** Особливості біотехнології комплексного лактобіфідопробіотику: визначення впливу раціональної дози на продуктивність курчат-бройлерів. / С.О. Гарда, **С.Г. Даниленко**, Т.М. Рижкова, Г.С. Литвинов // Наукові вісті НТУУ «КПІ» 2017. – № 3. – С. 12-18.
7. **Потемська О.І.** β- галактозидазна активність бактерій як критерій відбору штамів до складу бактеріальних препаратів / О.І. Потемська, Н.Ф.

Кігель, С.Г. Даниленко, К.В. Копилова // Харчова наука і технологія. – 2017. – V. 11 № 3 – С. 35-41

8. **Даниленко С.Г.** Дослідження якісного та кількісного складу мікрофлори розсолів / С.Г. Даниленко, Л.М. Коваленко, І.В. Панасюк, Л. П. Недорізанюк. // Наукові праці НУХТ. – 2013. – № 49. – с. 45-49.

9. **Даниленко С.Г.** Визначення рівня контамінації *Yersinia enterocolitica* м'ясної сировини та молока / С.Г. Даниленко, Г.В. Козловська, Ф.Ж. Ібатулліна // Індустрія АПК – 2013. - № – 6. – с. 29-31.

10. **Даниленко С.Г.** Біотехнологія бактеріального препарату ЛЛР / С.Г. Даниленко // Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. – 2013. – т.15. - № 3 (57), частина 4. – с. 55-62 Технічні науки Серія «Харчові технології»

11. **Даниленко С.Г.** Мікрофлора м'ясних розсолів / **С.Г. Даниленко**, І.В. Панасюк, Л. П. Недорізанюк. // Харчова наука і технологія. – 2013. – № 4 (25)'. – с. 43-45.

12. **Даниленко С.Г.** Селекція молочнокислих бактерій з некомерційних м'ясних продуктів / С.Г. Даниленко // Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. – 2014. – т. 16. - № 2 (59), Частина 4 – с. 43-47 Технічні науки Серія «Харчові технології»

13. **Даниленко С.Г.** Скринінг молочнокислих мікроорганізмів за нітритредукуючою активністю / С.Г. Даниленко // Наукові праці НУХТ. – 2014 – т. 20. №. 5– с. 35-40

14. **Даниленко С.Г.** Дослідження впливу різних фізико-хімічних факторів на життєздатність молочнокислих бактерій / С.Г. Даниленко // Продовольчі ресурси : зб. Наук.пр. / НААН України ; Ін-т прод. Ресурсів НААН України. – К. : ННЦ «ІАЕ», 2014. - № 3. – С. 130-134

15. **Даниленко, С.Г.** Застосування функціональної добавки БК-Пт при вирощуванні курчат-бройлерів / С.Г. Даниленко, С.О. Гарда // Продовольчі ресурси : зб. Наук.пр. / НААН України; Ін-т прод. Ресурсів НААН України. К.: ННЦ «ІАЕ», 2015. - № 4. – С. 117-122.

16. Сичевський М.П. Дослідження впливу функціональної добавки БК-Птиця на фізико-хімічні показники м'язової тканини курчат бройлерів / М.П. Сичевський, **С.Г. Даниленко** // Технологічний аудит та резерви виробництва. – 2016. - №4/4 (30). – С. 56-60.

17. **Даниленко С.Г.** Визначення бактеріальної якості продуктів тваринного походження / С.Г. Даниленко, І.В. Панасюк, К.В. Копилова, Т.А. Крижська // Продовольчі ресурси : зб. Наук.пр. / НААН України; Ін-т прод. Ресурсів НААН України. В. : ТОВ «Нілан-ЛТД», 2017. – № 8. – С. 36-41.

18. Гарда С.О. Визначення стійкості до антибіотиків перспективних штамів для пробіотиків / С.О. Гарда, **С.Г. Даниленко**, Г.С. Литвинов. // Наукові вісті НТУУ «КПІ». – 2013. – № 3. – с.24-27.

19. Гарда С.О. Дослідження мікрофлори м'яса птиці щодо відповідності ветеринарно-санітарним вимогам / С.О.Гарда, **С.Г.Даниленко**, Г.С.Литвинов // Вісник ЖНЕУ. – 2013. – № 2 . – с. 121-128.

20. **Даниленко С.Г.**, Король Ц.О., Коваленко Л.М. Опрацювання складу поживного середовища для нагромадження біомаси заквашувальної композиції “ЛРР” / С.Г. Даниленко, Ц.О. Король, Л.М. Коваленко // Materiały IX międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji «nauka i inowacja-2013» 07-15 października 2013 roku– 2013 • V. 15 – p. 19-22.

21. Крыжская Т.А. Формирование вкуса и аромата сыровяленых изделий под влиянием бактериальных препаратов / Т.А. Крыжская, Ц.А. Король, **С.Г. Даниленко**, Я.Ф. Жукова, Н.Ф. Усатенко. // Птица и птицепереработка. – 2013. - № 6 – с. 56-59.

22. Недоризанюк Л.П. Влияние биотехнологической обработки мяса на вкусоароматические свойства цельномышечных / Л.П. Недоризанюк, **С.Г. Даниленко** // Пищевая промышленность: наука и технологии. – 2014. - № 3 (25). – С. 24-28.

23. Гарда С.А. Скрининг бифидо- и лактофлоры сельскохозяйственной птицы / С.А. Гарда, **С.Г. Даниленко** // Птица и птицепродукты. – 2015. - № 2 – с. 50-52.

24. Патент 109078 України, МПК⁷ C12N1/2, A61R35/75, A23K1/165 Штам бактерій *Lactobacillus paracasei*, що використовується у виробництві пробіотичних препаратів для сільськогосподарської птиці / **Даниленко С. Г.**, Гарда С. О., Кігель Н.Ф.; заявник та патентовласник Інститут продовольчих ресурсів НААН - № а201403335; заявл. 02.04.14; опубл. 10.07.15, Бюл. № 13.

25. Патент 109097 України, МПК⁶ C 12 N 1/20, A 23 C 9/12, A 22 C 11/00 Спосіб одержання бактеріального препарату “КПК” для виробництва ферментованих м’ясних продуктів / **Даниленко С. Г.**, Кігель Н. Ф., Король Ц.О.; заявник та патентовласник Інститут продовольчих ресурсів НААН - № а201411266 ; заявл. 16.10.14; опубл. 10.07.15, Бюл. № 13.

26. Патент 109098 України, МПК⁷ C12N1/2, A61R35/75, A23K1/165 Штам бактерій *Lactobacillus rhamnosus*, що використовується у виробництві функціональних добавок для сільськогосподарських тварин та птиці / **Даниленко С.Г.**, Кігель Н.Ф.; заявник та патентовласник Інститут продовольчих ресурсів НААН - № а20141127 ; заявл. 16.10.14; опубл. 10.07.15, Бюл. № 13.

27. Патент UA № 113345 МПК (2016.01) A23L 13/40 (2016.01); A23L 13/70 (2016.01) A22C 11/00 Спосіб виробництва сиркопчених суцільном’язових продуктів зі свинини Недорізанюк Л.П., Лизова В.Ю., **Даниленко С.Г.** а 2015 08055 від 13.08.2015, Бюл. № 5; опубл. 10.01.2017, Бюл. №1.

28. Патент UA № 112353 МПК C12N 1/20 (2006.01); C12R 1/225 (2006.01); C12R 1/46 (2006.01) Спосіб консервування біомаси заквашувальних культур **Даниленко С.Г.**, Кігель Н.Ф., Семенівська О.А. а 2014 12500 від 27.04.2015, Бюл.№8; від 25.08.2016, Бюл. №16.

29. Патент UA № 116253 МПК A23K 50/70 A23K 10/16 (20116/01); C12N 1/20 (2006.01); C12R 1/01 (2006.01); C12R 1/225 (2006.01); C12R 1/25 (2006.01) Спосіб одержання бактеріального концентрату “БК-Птиця” для кормових продуктів **Даниленко С.Г.**, Гарда С.А. а 2016 01120 від 10.08.2016, Бюл.№15; від 26.02.2018, Бюл. №4.

30. Патент UA № 117082 МПК C12N 15/11 (2006.01); C12Q 1/04(2006.01); C12Q 1/68 (2018.01); G01N 33/02 (2006.01); C12R 1/23 (2006/1) Спосіб визначення культури *Lactobacillus acidophilus* за допомогою пари специфічних олігонуклеотидних праймерів методом полімеразної ланцюгової реакції Жукова Я.Ф., Вакуленко М.М., **Даниленко С.Г.** а 2017 08391 від 15.08.2017, від 26.02.2018, Бюл. № 4; від 11.06.2018, Бюл. № 11.

31. Патент на корисну модель № 63704 Заявка № а 2010 04109 МПК⁶ C 12 N 1/20 A 22 C 11/00 **A23L1/31, A23B4/0** C12R1:25 Штам бактерії *Lactobacillus plantarum*, що використовується у виробництві бактеріальних препаратів та ферментованих м'ясних продуктів / Король Ц.О., **Даниленко С.Г.**, Кігель Н.Ф. – від 25.10.11.

32. Король Ц.О. Селекція перспективних мікрококів та стафілококів для ферментації м'ясних продуктів / Ц.О. Король, **С.Г. Даниленко**, Н.Ф. Кігель. // Вісник аграрної науки.-2004.-№4.-С.56-59.

33. Король Ц.О. Застосування методу “лунок” для встановлення взаємовідносин між складниками заквашувальних композицій / Ц.О. Король, **С.Г. Даниленко**. // Вісник аграрної науки. – 2008. - №8. – С. 58-61.

34. Скибіцький В.Г. Виділення лактобактерій від телят та їх ідентифікація / В.Г. Скибіцький, Г.В. Козловська, **С.Г. Даниленко**, В.Г. Спиридонов, Д.Л. Мартиненко, А.П. Герілович. // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України Серія «Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва»- 2011 т.167 ч.1. с. 102-108

35. Козловська Г.В. Антагоністичні та адгезивні властивості біфідобактерій, виділених від телят / Г.В. Козловська, **С.Г. Даниленко**, В.Г. Скибіцький. // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького Том 13 № 4(50) Частина 1 (ветеринарні науки), 2011 с. 77-81.

36. Козловська Г.В. Пошук мікробів-антагоністів / Г.В. Козловська, **С.Г. Даниленко**. // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія «Ветеринарна медицина, якість і

безпека продукції тваринництва» - 2012. - т.172 ч.2. с. 66-70.

37. **Даниленко С.** Для колбас сырокопченых и сыровяленых. Заквасочные культуры в мясном производстве / С. Даниленко. // Мир продуктов. – 2012. – 6 (85). – с. 38-40.

38. Козловська Г.В.. Підбір захисних середовищ у процесі ліофілізації штамів біфідо- та лактобактерій / Г.В. Козловська, **С.Г. Даниленко**, Ф.Ж. Ібатулліна // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія «Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва»- 2012. - т.172 ч.4. с. 30-33.

39. **Даниленко С.Г.** Властивості штамів мікроорганізмів *Lactobacillus paracasei* ssp. *Paracasei* та *Bifidobacterium longum* subsp. *Suis* / С.Г. Даниленко // Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. – 2013. – т. 15. - № 1 (55). – Частина 1 – с. 296-301 серія «ветеринарні науки» .

40. **Даниленко С.Г.** Выживаемость *Lactobacillus paracasei* ssp. *Paracasei* при криоконсервации / С.Г. Даниленко, С.А. Гарда, И.В. Панасюк. // Сборник научных трудов Sworld. – Выпуск 3. Том 43 – Иваново: МАРКОВА АД, 2013. – ЦИТ:313-1053 – С. 73-75.

41. **Даниленко С.Г.** Вплив лактобактерій на спонтанну мікрофлору м'яса / С.Г. Даниленко, Н.Ф. Кігель. // Продовольчі ресурси.: зб. Наук.пр. / НААН України; Ін-т прод. Ресурсів НААН України. К.: ННЦ «ІАЕ», - № 1. – с. 50-57.

42. **Даниленко С.Г.** Вплив ферментного препарату на протеолітичні процеси у сиров'ялених м'ясних продуктах / С.Г. Даниленко. // Товари і ринки. – 2013. - №2. – С. 107-114.

43. **Даниленко С.Г.** Вплив ефірних олій на технологічно важливу мікрофлору / С.Г. Даниленко, І.В. Панасюк, С.О. Гарда. // Вісник аграрних наук – 2014 - № 3. – С. 64-67.

44. **Даниленко С.Г.** Оцінка пробіотичного потенціалу штамів молочнокислих бактерій / С.Г. Даниленко // Сборник научных трудов Sworld.

– Выпуск. 2, Том 8– Иваново: МАРКОВА АД, 2014. — С. 99-102

45. **Даниленко С.Г.** Добір мікроорганізмів для ферментації м'ясної сировини / С.Г. Даниленко, Н.Ф. Кігель, Г.В. Бурцева // *Biotechnologia Acta* – 2014. – Т.7, № 4. – С. 107-117.

46. Гарда С.О. Визначення стійкості технологічно важливої мікрофлори птахів до кокцидіостатиків / С.О. Гарда, **С.Г. Даниленко**, Г.С. Литвинов // Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. – 2014. – т.16. - №3 (60)– с.86-90. СЕРІЯ «ветеринарні науки».

47. **Даниленко С.Г.** Створення функціональної добавки БК-П / С.Г. Даниленко // Технологический аудит и резервы производства . – 2014 — № 3/5(17) – С. 34-36

48. **Даниленко С.Г.** Зберігання культур молочнокислих мікроорганізмів / Даниленко С.Г. // Наукові праці НУХТ. – 2015 – т. 21, № 1. – с. 28-32

49. **Даниленко С. Г.** Визначення гострої токсичності експериментальної функціональної добавки / Даниленко С.Г. // Збірник наукових праць Вінницького національного аграрного університету. Серія: Технічні науки. – 2015. –В. 1 (89) Том 1. – С. 100-104.

50. *Скибіцький В.Г*, Козлова Г.В., Ібатулліна Ф.Ж., Волосянко О.В., Мельник М.В., Столюк В.В., Постой В.В., Ушаков В.О., Акименко Л.І., В'юник О.С., Кігель Н.Ф., **Даниленко С.Г.** Методичні рекомендації з конструювання пробіотиків та застосування їх у практиці ветеринарної медицини. – Національний університет біоресурсів і природокористування України. Український ННІ якості біоресурсів та безпеки життя. –Київ, 2011, 38 с.

Тези доповідей на наукових конференціях

51. Бурцева Г.В. Дослідження нітритредуктазної активності коагулазонегативних стафілококів / Г.В. Бурцева, Ц.О. Король, **С.Г. Даниленко**. // Тези доповідей XII з'їзду Товариства мікробіологів України

ім. С.М. Виноградського (25-30 травня 2009 р., м. Ужгород,). – Ужгород., 2009. – С. 361.

52. Король Ц.О. Застосування бактеріальних препаратів для суцільном'язових сиров'ялених продуктів із м'яса птиці/ Ц.О. Король, **С.Г. Даниленко**, Н.Ф. Кігель. // Матеріали Всеукраїнської конференції з питань безпеки харчування (27-29 березня 2010 р., м.Київ). – К.: НТУУ «КПІ», 2010. – С. 175-176.

53. Бурцева Г.В. Вплив заквашувальної композиції на біохімічні процеси у цільном'язевих сиров'ялених виробках./ Г.В. Бурцева, **С.Г. Даниленко**. // Збірник тез VI Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології » (21-24 вересня 2010 р., м. Львів): Л.: ЛНУ, 2010. – С. 146-147.

54. Недорізанюк Л.П. Застосування бактеріальних препаратів у технології ферментованих суцільном'язевих продуктів зі свинини / Л.П. Недорізанюк, В.Ю. Лизова, **С.Г. Даниленко** // Матеріали міжнародної науково-технічної конференції «Сучасні технології та обладнання харчових виробництв» (29-30 вересня 2011 р., м. Тернопіль). – Т.: ТНТУ, 2011. – С. 87-88.

55. Бурцева А.В. Создание стартерных бактериальных композиций для ферментированных мясных продуктов / *А.В. Бурцева*, **С.Г. Даниленко** // Сборник тезисов 15 Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых «Биология. Наука XXI века» (2011 г., г. Пущино) – Пущино, 2011. – С. 278-279

56. Панасюк І.В. Дослідження використання ферментного препарату «протосубтилін» у виробництві балику «Дарницький» / І.В. Панасюк, Н.Ф. Кігель, **С.Г. Даниленко**. // Матеріали 77-а наукової конференції молодих вчених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (11-12 квітня 2011 р., м. Київ). – К.: НУХТ, ч.1. – С.262-263.

57. Гарда С.О. Дослідження мікрофлори м'яса / *С.О. Гарда*, Н.Ф.

Кігель, **С.Г. Даниленко**. // Матеріали V регіональної науково-практичної конференції викладачів, науковців, аспірантів, молодих вчених та студентів «Біотехнологія XXI століття» (26 квітня 2011, м. Київ). – К.: НТУУ «КПІ». – С. 48.

58. **Даниленко С.** Визначення антибіотикостійкості промислових культур / С. Даниленко, Г. Бурцева, С. Гарда. // Тези доповідей міжнародної науково-практичної інтернет – конференції «Механізми реалізації стратегії розвитку національної економіки» (20-21 жовтня 2011 р. м. Тернопіль) С.46-49.

59. Панасюк І.В. Підбір штамів різних таксономічних груп для ферментування м'ясної сировини / І.В. Панасюк, С. О. Гарда, Л. П. Недорізанюк, **С.Г. Даниленко** // Матеріали 78 міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів та студентів «Наукові здобутки молоді – вирішення проблем харчування людства у XXI столітті» (2-3 квітня 2012 р., м. Київ). – К:НУХТ, 2012. – С. 427-428.

60. Панасюк И.В. Влияние продолжительности посола на микрофлору мясного продукта/ *И.В. Панасюк, С.О. Гарда, Л.П. Недоризанюк, С.Г. Даниленко* // Сборник материалов V-й Всероссийской студенческой научной конференции «Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии» (25 – 26 апреля 2012 г., г. Ульяновск). – Ульяновск:УГСХА, 2012. –С. 116-117

61. Панасюк І.В., Вплив складу захисного середовища на виживання молочнокислих бактерій та стафілококів за ліофілізації та зберігання/ І.В. Панасюк, С.О. Гарда, Л.П. Недорізанюк, **Даниленко С.Г.** // Збірник статей IV Всеукраїнської науково-практичної конференції “Новітні тенденції у харчових технологіях та якість і безпечність продуктів” (5 – 6 квітня 2012 р., м. Львів,.). – Львів, 2012. – с. 62-65.

62. **С.Г. Даниленко** Поиск и подбор штаммов микроорганизмов, перспективных для посола мясных продуктов. / С.Г. Даниленко, И.В. Панасюк, Л.Н. Коваленко // Пищевые инновации и биотехнологии: сборник

материалов конференции студентов, аспирантов и молодых ученых / под общ. Ред. А.Ю. Просекова; ФГБОУ ВПО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности» (22 апреля 2013 г., г. Кемерово). – Кемерово, 2013. – с. 150-154.

63. . Коваленко Л.М, Визначення видової належності штамів мікроорганізмів, виділених з ферментованого м'ясного продукту / Л.М. Коваленко, **С.Г. Даниленко**. // Матеріали 79 міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді — вирішенню проблем харчування людства у ХХІ столітті» (15 – 16 квітня 2013 р., м. Київ). — К.: НУХТ, 2013 р. — Ч. 1. — с. 684-686.

64. **Даниленко С.Г.** Каталазна активність селекціонованих стафілококів та мікрококів / С.Г. Даниленко, І.В. Панасюк, Л.М. Коваленко // Тези доповідей VII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 115 річниці заснування НТУУ «КПІ» Біотехнологія ХХІ століття (24 квітня 2013р., м. Київ). – К.: НТУУ «КПІ», 2013. – с. 29-30.

65. **С.Г. Даниленко**. Пробиотический препарат для птицы / *С.Г.Даниленко, С.А. Гарда*. // Материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых. В 4- ч «Молодежь и инновации - 2013» / Гл. Ред.. А.П. Курденко. – Горки: Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, 2013. – Ч3. С. -200-203.

66. Гарда С.О. Пробиотичні властивості мікроорганізмів / С.О. Гарда, **С.Г. Даниленко**, І.В. Панасюк. //Матеріали IX Международної науково-практичної конференції «Наука в інформаційному просторі» (10–11 жовтня 2013 р.) – Д.: Біла К.О. – С. 28-31.

67. **Даниленко С.Г.** Підбір поживного середовища для нагромадження *Lactobacillus paracasei ssp. Paracasei* / С.Г. Даниленко, І.В. Панасюк, В.С. Войцехівська, С.О. Гарда. // Тези доповідей II Міжнародної науково-практичної конференції, «Новітні досягнення біотехнології» (24-25 жовтня, 2013 р. м. Київ) –К.: Вид-во «Мегапринт», 2013. – с. 43-44.

68. Коваленко Л. Підбір поживного середовища для нагромадження

лактобактерій / Л. Коваленко, С. Гарда, **С. Даниленко**. //Матеріали 80 міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів “Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у ХХІ столітті” (10–11 квітня 2014 р., м. Київ) – К.: НУХТ, 2014 р. – Ч.1. – с.612-614.

69. **Даниленко С.Г.** Дослідження впливу мультивітамінного комплексу на ріст штамів *Lactobacillus paracasei ssp. Paracasei* / С.Г. Даниленко, Л.М. Коваленко, С.О. Гарда. // Materiály X mezinárodní vědecko – praktická konference «Dny vědy – 2014». (27.03.2014 – 05.04.2014, Praha Biologické vědy.: Praha. Publishing House «Education and Science» s.r.o – s. 55-58.

70. **Даниленко С.Г.** Дослідження впливу інуліну на ріст штамів лактобацил / С.Г. Даниленко, Л.М. Коваленко // Тези доповідей VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія ХХІ століття», присвяченій 200 річниці з дня народження Т. Г. Шевченка: (25 квітня 2014 р., м. Київ,). – К.:НТУУ «КПІ», 2014. – С. 28-29.

71. Гарда С.О. Дослідження активності кислотоутворення штамів / С.О. Гарда, Л.М. Коваленко, **С.Г. Даниленко**, Г.С. Литвинов // Збірник тез III Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Біотехнологія: звершення та надії» (15-16 травня 2014, м. Київ). – Київ: ВЦ НУБіП України. – С. 17-18.

72. *Гарда С.А.* Скрининг микрофлоры сельскохозяйственной птицы / С.А. Гарда, **С.Г. Даниленко**, Г.С. Литвинов // Материалы Всероссийской научной конференции «Закономерности функционирования природных и антропогенно трансформированных экосистем» (22–23 апреля 2014 г., г. Киров.). – Киров: Изд-во ООО «ВЕСИ», 2014. – С.275-278.

73. **Даниленко С.Г.** Особенности использования бактериального препарата при посоле мясного сырья / *С.Г. Даниленко* // Материалы международной научно-практической конференции профессорско-преподавательского состава и аспирантов «Актуальные проблемы развития общественного питания и пищевой промышленности» (10 апреля 2014 г.г.

Белгород) – Белгород: Издательство БУКЭП, 2014. – С. 335-340.

74. **Даниленко С.Г.** Исследование закономерностей функционирования бактериального препарата в мясном сырье / С.Г. Даниленко // Зб. Наук. Праць за матеріалами II Міжнар. Наук.-практ. Конф. «Продовольчі ресурси : проблеми і перспективи» Секція 1 «Сучасні ресурсозберігаючі технології в харчовій промисловості. Безпечність та якість харчових продуктів» (11 листопада 2014 , м. Київ). – К.: ННЦ«ІАЕ». – 2014. – С. 206-209.

75. **Даниленко С.** Оцінювання пробіотичного потенціалу біологічно активних штамів, вилучених із природних джерел / С. Даниленко, С. Гарда, О. Потемська // Програма і матеріали четвертої міжнародної науково-технічної конференції «Перспективи розвитку м'ясної, молочної та олієжирової галузей у контексті євроінтеграції» (24 — 25 березня 2015 р., м. Київ) — К.: НУХТ, 2015. — С. 187-188.

76. **Даниленко С.Г.** Адгезивна властивість біфідобактерій / С.Г. Даниленко, О.І. Потемська, С.О. Гарда // Тези доповідей IX Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія ХХІ століття», присвяченій 170 річниці від дня народження Іллі Мечнікова (24 квітня 2015 р., м. Київ). К.: НТУУ «КПІ», 2015 – С. 35.

77. Гарда С.О. Вплив різних доз функціональної добавки в комбікормах на продуктивність курчат-бройлерів / С.О. Гарда, **С.Г. Даниленко** // Збірник. Наукових праць за матеріалами III Міжнародної науково-практичної конференції «Продовольчі ресурси:: Проблеми і перспективи» : Секція 1 «Інноваційні біотехнології та обладнання в харчовій промисловості» (4 листопада 2015р., м. Київ). – К. : ННЦ ІАЕ. – 2015. – С. 44-46.

78. Король Ц.О. Оцінювання життєздатності культур молочнокислих бактерій при їх заморожуванні та сушінні / Ц.О. Король, **С.Г. Даниленко**, В.М. Закревська // Збірник наукових праць за матеріалами III Міжнародної науково-практичної конференції «Продовольчі ресурси: проблеми і перспективи»: Секція 1. «Інноваційні біотехнології та обладнання в харчовій промисловості» (30 листопада 2016 р, м Київ). – 2016. – С. 22-25.

79. **Даниленко С.Г.** М'ясо та м'ясні продукти. Організація та методи мікробіологічних досліджень (ДСТУ 8381:2015) / С.Г. Даниленко, Н.Ф. Кігель, Г.В. Козловська, І.В. Панасюк. – [Чинний від 2017 – 01 – 07]. – К.: Держспоживстандарт України, 2015. – 48 с.

80. Романчук І.О. Вироби ковбасні та продукти з м'яса. Методи визначення мікробного забруднення (ДСТУ 8720:2017). / І.О. Романчук, **С.Г.Даниленко**, Н.Ф. Кігель. – [Чинний від 2019 – 01 – 01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2017. – __ с.

81. Єресько Г.О. Молоко та молочні продукти. Методи мікробіологічного аналізування (ДСТУ 7357:2013) / Г.О. Єресько, **С.Г.Даниленко**, Н.Ф.Кігель. – [Чинний від 2014 – 01 – 01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2014. – 38 с.

82. Єресько Г.О. Молоко, молочні продукти та закваски. Метод визначання кількості біфідобактерій. (ДСТУ 7355:2013) / Г.О.Єресько, **С.Г.Даниленко**, Ц.О. Король, Н.Ф. Кігель, Г.Г. Борщ. [Чинний від 2014 – 01 – 01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2014. – 18 с.

ЗМІСТ

	Стор.
Перелік умовних позначень	32
Вступ	34
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	43
1.1 Склад мікробіоти сільськогосподарських тварин	44
1.2 Біологічні властивості, за якими здійснюють відбір пробіотичних культур	49
1.3 Обґрунтування і результативність використання пробіотиків у годівлі сільськогосподарських тварин	54
1.4 Критерії добіру мікроорганізмів для ферментації м'ясної сировини	63
1.5 Бактеріальні препарати для інтенсифікації ферментування м'ясної сировини	78
РОЗДІЛ 2 ОРГАНІЗАЦІЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	87
2.1. Вибір напрямку та методики досліджень	87
2.2. Об'єкти досліджень	88
2.3. Методика проведення дослідів	91
2.3.1. Мікробіологічні методи	91
2.3.2. Методи дослідження біологічних властивостей окремих штамів бактерій та їхніх композицій	95
2.3.3. Визначення зоотехнічних показників	100
2.3.4. Фізико-хімічні методи	102
2.3.5. Структурно-механічні показники	105
2.3.6 Визначення біологічної цінності	106
2.3.7. Умови культивування мікроорганізмів	106
2.3.8. Дослідження ростових параметрів культур мікроорганізмів та їхніх композицій	106

2.3.9. Умови одержання сухих препаратів	108
2.3.10 Молекулярно-генетичні методи.	108
2.3.11. Статистична обробка експериментальних результатів	111
РОЗДІЛ 3. АНАЛІЗ МІКРОБІОТИ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН	112
3.1 Скринінг мікроорганізмів з кишківника тварин	112
3.2 Ідентифікація штамів молочнокислих та біфідобактерій, виділених із біологічного матеріалу сільськогосподарських тварин	119
3.3 Дослідження біологічних властивостей відібраних штамів мікроорганізмів	125
3.3.1 Визначення антагоністичної активності лактобацил і біфідобактерій методом лунок	126
3.3.2 Чутливість лактобацил і біфідобактерій до кислотності	129
3.3.3 Чутливість лактобацил і біфідобактерій до жовчних солей	132
3.3.4 Чутливість лактобацил і біфідобактерій до антимікробних препаратів	136
3.3.5 Адгезивна активність лактобацил і біфідобактерій	141
<i>Висновки до розділу 3</i>	148
РОЗДІЛ 4 РОЗРОБЛЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЙ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ДОБАВОК ДЛЯ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН	150
4.1 Дослідження антагоністичної активності штамів-пробіотиків до патогенних польових ізолятів	151
4.2 Стійкість до кокцидіостатиків штамів-пробіотиків	153
4.3 Створення заквашувальних композицій	156
4.3.1 Вплив преміксів на розвиток штамів-пробіотиків	164
4.3.2 Підбір концентрації вуглеводів	171
4.4 Підбір поживного середовища	174
4.5 Підбір захисного середовища для зберігання біомаси	182

функціональних добавок

Висновки до розділу 4 189

РОЗДІЛ 5 ВПЛИВ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ДОБАВКИ «БК-ПТ» НА ІНТЕНСИВНІСТЬ РОСТУ КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ 191

5.1 Визначення зоотехнічних показників 193

5.2 Морфологічні та біохімічні показники крові курчат-бройлерів 195

5.3 М'ясна продуктивність і хімічний склад м'яса курчат-бройлерів 199

5.4 Біологічна цінність 204

5.5 Вплив функціональної добавки БК-Пт на формування кишкового мікробіоценозу курчат-бройлерів. 208

Висновки до розділу 5 213

РОЗДІЛ 6 ЗАСТОСУВАННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ДОБАВКИ БК-П У ВІДГОДІВЛІ ПОРОСЯТ 214

6.1 Морфологічні та біохімічні показники крові дослідного молодняку свиней 215

6.2 Динаміка живої маси та інтенсивність росту молодняку свиней 218

6.3 Корекція мікробіоценозу кишківника молодняку свиней функціональною добавкою БК-П 220

6.4 Показники м'ясної продуктивності дослідного молодняку свиней 225

6.5 Фізико-хімічні властивості і хімічний склад м'язової тканини дослідного молодняку 227

6.6 Економічна ефективність використання функціональної добавки «БК-П» в раціоні молодняку свиней 232

Висновки до розділу 6 234

РОЗДІЛ 7 ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕПАРАТУ «БК-Т» У ВІДГОДІВЛІ ТЕЛЯТ 236

7.1. Функціональна добавка для телят БК-Т 236

7.2. Механізми біологічної дії функціональної добавки БК-Т на макроорганізм	242
7.3 Вплив функціональної добавки БК-Т на гемолітичні показники крові та продуктивність телят	245
7.4 Визначення терапевтичної ефективності функціональної добавки БК-Т	248
7.5 Вплив функціональної добавки БК-Т на продуктивність телят	251
7.6 Клінічні та гематологічні показники	252
7.7 М'ясна продуктивність бичків	254
7.8. Економічні показники вирощування та відгодівлі бичків	254
7.9 Хімічний склад туші	255
7.10 Амінокислотний склад	259
<i>Висновки до розділу 7</i>	261
РОЗДІЛ 8. СЕЛЕКЦІЯ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ, ЯКІ Є ПЕРСПЕКТИВНИМИ ДЛЯ ФЕРМЕНТУВАННЯ М'ЯСНИХ ПРОДУКТІВ	264
8.1. Характеристика мікробіотим'ясних виробів	264
8.2 Диференціація ентерококів та стрептококів	267
8.3. Диференціація мікрококів та стафілококів	269
8.4 Технологічні властивості виділених штамів	272
8.5 Ідентифікація виділених стафілококів та мікрококів	275
8.6 Ідентифікація лактобактерій	283
8.7. Визначення безпечності відібраних мікрококів та стафілококів	287
8.8. Дослідження нітритредукувальної активності молочнокислих мікроорганізмів	287
8.9 Дослідження впливу ефірних олій на технологічно важливу мікробіоту	290
<i>Висновки до розділу 8</i>	292
РОЗДІЛ 9 СКЛАДАННЯ ЗАКВАШУВАЛЬНИХ КОМПОЗИЦІЙ	293

ДЛЯ ФЕРМЕНТАЦІЇ М'ЯСНОЇ СИРОВИНИ

9.1	Складання заквашувальних композицій	293
9.2	Дослідження технологічних властивостей заквашувальних композицій	300
9.2.1	Нітритредуюча активність	302
9.2.2.	Протеолітична активність	304
9.2.3	Антагоністична активність культур та їхніх композицій	307
9.3	Опрацювання складу поживного середовища та умов нагромадження заквашувальних композицій “ЛРР” та “КПК”	311
9.4.	Одержання бактеріальних концентратів у напівпромислових умовах та вивчення їх властивостей	327
9.5	Підбір захисного середовища для культивування бактеріальних концентратів	337
	Висновки до розділу 9	344
РОЗДІЛ 10	ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ БАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ “ЛРР” ТА “КПК” ПІД ЧАС ФЕРМЕНТУВАННЯ М'ЯСНОЇ СИРОВИНИ	345
10.1	Функціонування новостворених бактеріальних препаратів “КПК” та “ЛРР” у м'ясній сировині за посолу	346
10.1.1	Вплив препарату “КПК” та “ЛРР” на спонтанну мікробіоту за посолу м'ясної сировини	347
10.1.2	Вплив препарату “КПК” та “ЛРР” на фізико-хімічні показники за посолу м'ясної сировини	350
10.2	Вплив бактеріальної композиції на фізико-хімічні і функціонально-технологічні властивості м'ясної сировини за посолу	353
10.3	Вплив бактеріальн композиції на формування смако-ароматичних властивостей м'ясної сировини за посолу	355

10.4 Вплив бактеріальних препаратів на спонтанну мікробіоту та фізико-хімічні показники сиров'ялених виробів	356
10.5 Вплив заквашувальної композиції «КПК» на формування смако-ароматичних характеристик ферментованих м'ясних продуктів	360
Висновки до розділу 10	365
Висновки	367
Список використаних джерел	372
ДОДАТКИ	431
А. Характеристика перспективних штамів	431
Б. Свідчення про депонування штамів	445
В. Результати перевірки безпечності штамів	465
Г. Титульні листи нормативних документів	477
Д. Документи, що підтверджують впровадження функціональних добавок та бактеріальних препаратів на ДДППРНААН	486
Е. Патенти	490
Ж. Документи з визначення токсичної дії функціональних добавок	506
З. Результати клінічних випробувань препаратів	511
К. Документи, що підтверджують впровадження бактеріальних препаратів «ЛРР» та «КПК»	524

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЦ	- Ацетоїн
БАД	- Біологічно активні добавки
ББ	- Біфідобактерії
БМ	- Біомаса
БА	Біогенні аміни
ВСЗМ	- Відновлене сухе знежирене молоко
ГА	- Агаризоване поживне середовище на основі гідролізованого протеазою знежиреного молока
ГБ	- Рідке поживне середовище на основі гідролізованого протеазою знежиреного молока
ДА	- Дріжджовий автолізат
ЕПС	- Екзополісахариди
ЕКУ	Енергія кислотоутворення
ЗК	- Заквашувальна культура
ЗС	- Захисне середовище
КЕ	- Кукурудзяний екстракт
КВ	- Коефіцієнт варіації
КР	- Культуральна рідина
КУО	- Колонія утворююча одиниця
ЛА	- Ліполітична активність
ЛБ	- Лактобацили
МГС	- Молочно-гідролізатне середовище
МЗА	- Молокозсідальна активність

МКБ	- Молочнокислі бактерії
МКУ	- Межа кислотоутворення
МПА	- М'ясопептонний агар
МРС	- Середовище Мана-Рогози-Скардові
ОК	- Оцтова кислота
ПКБ	- Пропіоновокислі бактерії
ПС	- Поживне середовище
СЗМ	- Сухе знежирене молоко
УПЕ	- Умовно патогенні ентеробактерії
УПМ	Умовно-патогенні мікроорганізми
ФП	- Функціональні продукти
ШКТ	- Шлунково-кишковий тракт
ШКЗ	Шлунково-кишкові захворювання
g	- Термін регенерації
μ	- Питома швидкість росту
$\mu_{\text{макс}}$	Максимальна питома швидкість росту
v	Константа швидкості поділу
r	- Коефіцієнт кореляції
T_i	- Лаг-фаза
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	- <i>Lb. acidophilus</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	- <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	- <i>B. adolescentis</i>
<i>Bifidobacterium animalis</i>	- <i>B. animalis</i>
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	- <i>B. bifidum</i>
<i>Bifidobacterium infantis</i>	- <i>B. infantis</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	- <i>B. longum</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	- <i>E. faecium</i>

ВСТУП

Актуальність теми. Наукова концепція розвитку біотехнологій харчових продуктів, яка охоплює, зокрема, виробництво м'яса та м'ясних продуктів відповідно до потреб та вподобань споживачів, а також до вимог світового ринку.

Реалізація цієї концепції вимагає розробки принципово нових комплексних технологій з належним урахуванням результатів досліджень залежності якісних показників сировини від раціону годівлі забійних тварин та технології її переробки.

В умовах інтенсифікації сільськогосподарського виробництва та його поглибленої спеціалізації збільшення виробництва м'ясної продукції має бути забезпечено за рахунок підвищення продуктивності сільськогосподарських тварин, що неможливо без організації їх повноцінного збалансованого харчування. Тому виникає необхідність використовувати в їх раціонах біологічно активні препарати і кормові добавки нехімічного походження, що, з одного боку, дозволяють підвищити резистентність організму тварин, поліпшити ефективність використання кормів, збільшити швидкість росту, істотно підвищити збереження молодняку і дають можливість отримати продукцію з підвищеними споживчими властивостями, з іншого - належить до матеріалів біологічного походження, що сприяють належній екологізації виробництва.

Численними дослідженнями встановлено, що використання в раціонах тварин пробіотиків кормового призначення забезпечує імуномодулюючу та протиінфекційну дію, сприяє регулюванню стану кишкового мікробіоценозу, оптимізації процесу травлення і функції кишківника (Кігель Н., 1990, Тарадій Г.К., 2001, Пентилюк С.І., 2012, Юдина Н.А., 2015, Бондаренко В.М., 2007, Ghafoor A., 2005, Кочер Э., 2006, Вернер А., 2008, Roberfroid M.B., 1998, Бетин А., 2016, Субботин В.В., 2008, Фисинин В.И., 2017, Юлевич О.І., 2017).

Практика показує, що пробіотики необхідно розробляти з урахуванням специфіки систем травлення та способів годівлі кожного виду сільськогосподарських тварин, беручи за основу мікроорганізми вилучені від здорових тварин.

Важливою задачею виробництва продуктів харчування в умовах ринкової конкуренції є отримання готового продукту бажаної якості, гарантовано безпечного для споживачів. Виробництво сирокочених та сиров'ялених м'ясних продуктів передбачає ферментативне дозрівання, яке є одним із важливих напрямків заснованих на ефективних методах біотехнології.

Перехід від спонтанної ферментації до спрямованого використання мікроорганізмів можна датувати 1940 роком, коли у виробництві сирокочених ковбас уперше було застосовано чисті культури двох видів лактобацил *L. plantarum* і *L. fermentum*.

В Україні ці біотехнології препаратів для ферментування м'ясної сировини не мають належного поширення і переважно використовуються закордонні препарати мікроорганізмів, які мають ряд недоліків: не адаптовані до вітчизняної сировини і, як наслідок, не забезпечують відтворення традиційних органолептичних показників готової продукції.

У нашій країні, фактично, відсутні промислові штами, здатні нормалізувати мікробіоту кишківника тварин та ферментувати м'ясну сировину. Тому добір культур мікроорганізмів і створення препаратів на базі автохтонної мікробіоти вітчизняних сільськогосподарських тварин для підвищення продуктивності тваринництва, якості м'ясної сировини є актуальним та економічно обґрунтованим завданням.

У зв'язку з вищевикладеним актуальними є дослідження, спрямовані на пошук мікроорганізмів, придатних для отримання нових ефективних біотехнологій виробництва інноваційних препаратів-пробіотиків для тваринництва і птахівництва, а також препаратів для переробки отриманої м'ясної сировини.

Зв'язок роботи з науковими програмами.

Робота виконана відповідно до напряму науково-дослідних робіт Інституту продовольчих ресурсів НААН (ІПР НААН) в межах 4 бюджетних тем відділу біотехнології “Розробити нові бактеріальні препарати на основі молочнокислих бактерій для інтенсифікації процесу визрівання ферментованих м'ясних продуктів з характерними смако-ароматичними властивостями” номер державної реєстрації 0101U002286 (2001-2005 рр.); “Розробити ефективні бактеріальні препарати для виробництва ферментованих м'ясних продуктів” номер державної реєстрації 0101U002263 (2005-2010 рр.). “Провести селекцію мікрофлори, здатної до розвитку у гіпертонічних розчинах та сумішах для посолу м'яса, дослідити закономірності її функціонування” номер державної реєстрації 0111U001293 (2011-2015 рр.). “Розробити наукові засади селекції пробіотичних штамів мікроорганізмів для підвищення біологічної цінності харчових продуктів” номер державної реєстрації 0112U005064 (2011-2013 рр.).

Метою роботи є обґрунтування біотехнологічних процесів отримання нових функціональних добавок на основі пробіотичних мікроорганізмів, їх практичного застосування у відгодівлі сільськогосподарських тварин та створення мультикомпонентних бактеріальних препаратів на основі штамів бактерій різних таксономічних груп для ферментування м'ясної сировини.

Основними **завданнями** роботи визначено:

- Удосконалити методику вилучення лакто- та біфідобактерій за критеріями оцінки пробіотичних мікроорганізмів, вивчити їх біологічні властивості, встановити умови зберігання та підтримування штамів,;
- провести пошук та селекцію штамів молочнокислих бактерій та мікроорганізмів інших таксономічних груп із застосуванням сучасних підходів і методів, виходячи з критеріїв доцільності використання для виробництва ферментованих м'ясних продуктів критеріями;

- розробити та освоїти біотехнології бактеріальних препаратів для ферментовання м'ясних продуктів та функціональних добавок для годівлі сільськогосподарських тварин і птиці;
- перевірити функціональну ефективність новостворених функціональних пробіотичних добавок у лабораторних і клінічних умовах;
- визначити особливості впливу розроблених біотехнологій функціональних добавок на фізіологічні показники крові, кількісний та якісний склад мікробіоти кишківника, на живу масу та збереженість поголів'я тварин;
- дослідити вплив досліджуваних кормових функціональних добавок на якість м'ясної сировини;
- дослідити комплексний вплив інноваційних бактеріальних препаратів на мікробіологічні, біохімічні, фізико-хімічні та органолептичні властивості ферментованих м'ясних продуктів;
- розрахувати економічну ефективність застосування функціональних добавок в годівлі ВРХ, свиней та птиці;
- розробити нормативні документи щодо виробництва отриманих інноваційних бактеріальних препаратів, функціональних добавок та впровадити новостворені біотехнології у виробництво.

Об'єкт дослідження- біотехнологічні підходи до створення інноваційних препаратів на основі штамів молочнокислих і біфідобактерій, мікрококів і стафілококів, науково-методичне обґрунтування параметрів росту цих препаратів, поживні та захисні середовища, м'ясна сировина та ферментовані м'ясні продукти.

Предмет дослідження — біотехнології інноваційних препаратів, мікробіологічні, фізіолого-біохімічні властивості штамів молочнокислих та біфідобактерій, стафілококів і мікрококів; біологічні і технологічні характеристики відібраних штамів та їх композицій, ефективність

застосування функціональних добавок у відгодівлі молодняку ВРХ, поросят та птиці.

Методи дослідження. Загальні біотехнологічні методи, мікробіологічні, фізико-хімічні, молекулярно-генетичні методи ідентифікації мікроорганізмів, біохімічні та загальноприйняті методи біометричної статистики

Наукова новизна отриманих результатів.

Проведено пріоритетні теоретичні дослідження та обґрунтовано нові науково-практичні основи розробки біотехнологій інноваційних препаратів, для відгодівлі ВРХ, свиней і птиці та ферментації м'ясної сировини з використанням мікроорганізмів різних таксономічних груп.

Досліджено біотехнологічні та пробіотичні властивості вилучених мікроорганізмів, які визначають розвиток у ШКТ тварин та функціонування у м'ясній сировині.

Вперше на основі регіональних біологічно активних штамів молочнокислих та біфідобактерій, виділених із ШКТ здорових тварин, розроблено функціональні добавки для їх відгодівлі.

Сформовано колекцію промислово-цінних штамів молочнокислих та біфідобактерій для використання у виробництві пробіотиків для сільськогосподарських тварин. Отримано нові знання щодо пробіотичного потенціалу, закономірностей їх росту, регуляції метаболізму, що дало можливість обґрунтувати сукупність біотехнологічних рішень з відгодівлі тварин.

Розроблено основи промислової біотехнології нових бактеріальних композицій «ЛРР» та «КПК» для ферментації м'ясної сировини, зокрема встановлено співвідношення між компонентами композицій, раціональні умови нагромадження біомаси. Доведено необхідність постадійного внесення інокуляту під час нарощування біомаси, встановлено умови консервування та зберігання.

Отримали подальший розвиток дані щодо:

- складу мікробіоти вітчизняних сирокочених та сиров'ялених виробів з різних видів м'яса, виготовлених без застосування заквашувальних культур, для якої є характерним домінування природного комплексу молочнокислих бактерій та каталазонегативних коків, які визначають перебіг ферментування м'ясної сировини.

- наукового обґрунтування критеріїв селекції мікробіоти, яка забезпечують біохімічні та фізико-хімічні перетворення компонентів м'ясної сировини, специфічну смако-ароматичну гаму і високі санітарні показники готових ферментованих м'ясних продуктів;

Практичне значення результатів дисертаційної роботи полягає:

- у розробленні біотехнологій виробництва бактеріальних препаратів прямого внесення "ЛРР" та "КПК" для ферментації м'ясної сировини (ТУ У 15.5-00419880-101-2010 «Препарати бактеріальні для виробництва ферментованих м'ясних продуктів») та пробіотиків для тварин (ТУ У 10.9-00419880-136:2017 «Пробіотики «ТІММ» для сільськогосподарських тварин. Технічні умови»);

- у розробленні автором нормативних документів (НД) щодо мікробіологічного контролювання: ДСТУ 8381:2015 «М'ясо та м'ясні продукти. Організація та методи мікробіологічних досліджень»; ДСТУ 8720:2017 «Вироби ковбасні та продукти з м'яса. Методи визначення мікробного забруднення»; ДСТУ 7357:2013 «Молоко та молочні продукти. Методи мікробіологічного аналізування»; ДСТУ 7355:2013 «Молоко, молочні продукти та закваски. Метод визначання кількості біфідобактерій»;

- у розширенні колекції промислових мікроорганізмів ІПР НААН, що відповідають вимогам до пробіотиків, а саме по 1 штаму *Bifidobacterium gallinarum*, *B. pullorum*, *B. suis*, *B. infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum* та по 2 штами *L. rhamnosus* і *L. paracasei ssp. paracasei* та поповнено 15 штамами колекцію вітчизняних промислових штамів коагулазонегативних коків і молочнокислих бактерій для виробництва ферментованих м'ясних продуктів. Всі штами колекції задепоновано у

Національній колекції промислових мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України (ІМВ НАНУ). Три штами захищено патентами України.

За результатами клінічної апробації розроблено та рекомендовано до впровадження у ветеринарну практику пробіотик ТІММ-С.

Нововиділеними 35 штамами роду *Lactobacillus*, *Micrococcus* та *Staphylococcus* поповнено колекцію промислово цінних штамів ІПР НААН, що використовують у виробництві бактеріальних препаратів для ферментування м'ясної сировини. Проведено їх експериментальну апробацію у промислових умовах для виробництва сиров'ялених баликів на м'ясопереробному підприємстві ВКФ «Укрпромпомтач-95» ЛТД.

Новизна та оригінальність бактеріальних композицій, технологій бактеріальних препаратів та функціональних добавок, створених в процесі виконання роботи, захищена 7 патентами на винахід.

Виробництво бактеріальних препаратів та функціональних добавок впроваджено на Державному дослідному підприємстві ІПР НААН.

Функціональні добавки апробовано в промислових умовах господарств:

«БК-Пт» - НВП «УКРВАК», Київська обл., Броварський р-н, с. Княжичі;

«БК-П» - ФГ «Вітас іК», Полтавська обл., ДП «ДГ «Степне» Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН, Полтавська обл., та свинокомплексу «Мар'янівський» ТОВ «Черкаська м'ясна компанія», с. Мар'янівка, Лисянського р-ну Черкаської обл;

«БК –Т» - ФГ «Вітас іК», Полтавська обл.

Застосування отриманих інноваційних препаратів дає суттєвий соціально-економічний ефект завдяки опосередкованому оздоровленню людини за рахунок зменшення використання антибіотичних і хіміотерапевтичних препаратів у тваринництві і, як наслідок, обмеження

впливу на організм людини шкідливих хімічних речовин, зокрема алергенів, забезпечує отримання екологічно чистої продукції.

Особистий внесок здобувача полягає в теоретичному аналізі проблеми, визначенні напрямку досліджень, організації виконання експериментальних досліджень, обробленні та узагальненні отриманих результатів, у науковому обґрунтуванні технологічного процесу виробництва бактеріальних препаратів та функціональних добавок. Автором особисто, або за безпосередньої участі, підготовлено до публікації статті та патенти на винаходи, розроблено НД.

Планування основних напрямків роботи та обговорення результатів проводилося з науковим консультантом - доктором технічних наук Кігель Наталею Федорівною.

Окремі фрагменти досліджень виконано разом з к.т.н О.В. Наumenко (селекційна робота); к.б.н. Я.Ф. Жуковою (біохімічні дослідження), к.т.н. Л.І. Войцехівською (впровадження бактеріальних препаратів на м'ясопереробних підприємствах), Гардою С.В. (апробація функціональної добавки «БК-Пт»), к.в.н. Сапейком В.П. (антагоністична активність бактерій та впровадження функціональних добавок); к.б.н. Г.Ф. Риженко (токсичність функціональних добавок); д.в.н. В.Г. Скибіцьким та к.в.н. Г.В. Козловською (адгезивна та антагоністична активність бактерій, впровадження функціональних добавок). Всі співвиконавці робіт є співавторами відповідних публікацій. Автор висловлює подяку всім, хто допомагав у виконанні цієї дисертаційної роботи. Особисто автором описані результати досліджень, проведено їх аналіз та обговорення. Спільно із науковим консультантом сформовано висновки.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на Всеукраїнській конференції з питань безпеки харчування (2010 р., м. Київ), Міжнародній науково-практичній інтернет – конференції «Механізми реалізації стратегії розвитку національної економіки» (2011 р., м. Тернопіль), IV Всеукраїнській науково-практичній конференції “Новітні тенденції у харчових технологіях та якості і безпечність

продуктів” (2012 р., м. Львів), на Международной научно-практической конференции молодых ученых «Молодежь и инновации -2013» (2013, Білорусь, м. Горки), IX Международній науково-практичній конференції «Наука в інформаційному просторі» (2013 р., м. Дніпропетровськ), на VIII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Біотехнологія XXI століття», присвяченій 200 річниці з дня народження Т. Г. Шевченка (2014 р., м. Київ), на III Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Біотехнологія: звершення та надії» (2014, м. Київ), на X Міжнародній науково-практичній конференції «Dny vědy – 2014» (2014, Прага), на IV Міжнародній науково-технічній конференції «Перспективи розвитку м'ясної, молочної та олієжирової галузей у контексті євроінтеграції» (2015 р., м. Київ), на III Міжнародній науково-практичній конференції «Продовольчі ресурси: проблеми і перспективи» (2016 р., м. Київ).

Публікації. За результатами дисертаційної роботи опубліковано у 82 науковій праці, у тому числі 23 статей у наукових фахових виданнях (з них 11 статей у вітчизняних журналах, які представлено у міжнародних наукометричних базах даних, 4 статті у наукових виданнях інших країн), 7 патентів на винахід, 1 патентів на корисну модель, 18 статей у інших наукових виданнях, 1 методичні вказівки, 4 нормативні документи, 23 тез доповідей в збірниках конференцій.

Обсяг і структура роботи. Загальний обсяг дисертації становить 525 сторінки, зокрема основний зміст роботи викладено на 292 сторінках комп'ютерного тексту. Дисертація містить розширену анотацію (українською і англійською мовами), зміст, вступ, огляд літератури, розділ 2 «Матеріали і методи досліджень», експериментальні дослідження, викладені в розділах 3-10, висновки, список використаних джерел, додатки до дисертації. Робота включає 80 таблиць і 71 рисунок. Список використаної літератури налічує 474 джерел.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

У розвинених країнах світу питання здорового способу життя, що включає і здорове харчування, зведені в ранг державної політики. Найважливіше державне завдання - збереження здоров'я і продовження життя населення країни, пов'язане із забезпеченням функціонального харчування для всіх вікових груп громадян.

На перший план висувається управління якістю сільськогосподарської продукції за її виробництва та переробки. При цьому зростає роль наукового супроводу ресурсозберігаючих технологій у виробництві сільськогосподарської сировини і його переробці до поставки продуктів харчування з гарантією безпеки для людини, в яких не повинно бути патогенних мікроорганізмів, токсинів, радіоактивних та хімічних речовин, небезпечних для здоров'я людини. Одним із важливих факторів, що визначає здоров'я населення, є правильне, раціональне і повноцінне харчування. На сьогоднішній день велика увага приділяється створенню новітніх біотехнологій виробництва харчових продуктів, зокрема продуктів з пробіотичними властивостями, а також збільшенню об'ємів виробництва харчових виробів з підвищеною харчовою і біологічною цінністю, гарантованою безпекою і тривалим терміном придатності.

Розвиток науки і нові технології, що створюються на основі її досягнень, відкривають альтернативні шляхи вирішення проблем продовольчої безпеки. Пріоритетом у цьому аспекті може стати розвиток нових технологій, що об'єднуються під загальним терміном «біотехнологія». Ці технології дозволяють принципово новими засобами вирішувати існуючі проблеми, в тому числі отримання достатньої кількості продовольства, безпечного для здоров'я людини.

1.1 Склад мікробіоти сільськогосподарських тварин

Основні функції мікробіоти сільськогосподарської птиці, причини та наслідки порушень життєдіяльності організму тварин в тому числі і птиці, тісно пов'язана з активністю його мікробіоти [140]. У макроорганізмі вона виконує такі функції:

- морфокінетичну;
- участь в обміні речовин та підтриманні рН;
- продукування біологічно активних сполук;
- імуногенну;
- забезпечення колонізаційної резистентності;
- детоксикаційну

Деякі закономірності динаміки заселення ШКТ мікроорганізмами досить добре вивчені. Встановлено, що в кишківнику новонароджених тварин в перші дні переважають кокова мікробіота і клостридії, потім починають домінувати неспорові анаеробні бактерії і до кінця першого місяця життя формується мікробна популяція, подібна до такої як у дорослих особин. У кишківнику здорових тварин, в т.ч. і птиці, крім індігенних бактерій, завжди виявляють УПМ, видовий склад яких залежить від зовнішніх і внутрішніх факторів. Основними представниками кишкової мікробіоти є наступні групи бактерій:

- біфідобактерії, які мешкають в пристіночному слизу, просвіті товстого кишківника у молодняка і дорослих тварин і птахів;
- ентерококи і лактобактерії, що заселяють різні відділи гастроінтестинального тракту, а саме, ротову порожнину, зоб, шлунок, тонкий кишківник, найвища концентрація досягається в товстому кишечнику;
- ешерихії з вираженою ферментативною активністю відсутністю факторів вірулентності мешкають в товстому кишківнику та дистальних відділах тонкого кишківника. Наприклад, домінуючі таксони в кишківнику добового курчати [186]:

- Uncultured-понад 50%, - Bacteroides - більше 1%, - Fusobacterium sp. - більше 16%, - Lactococcus sp. - більше 10%, - Carnobacterium sp. - більше 10%, - Ruminococcus sp. - більше 7%, - Uncultured delta proteobacteria - більше 7%, - Enterobacteriaceae - більше 5%, - Pseudomonadaceae - більше 7%, - Thermotogae - більше 7%.

Домінуючі види бактерій кишківника дорослої птиці - Ruminococcus flavefaciens, 250, - Uncultured, 433, - Carnobacterium sp., 531 - Uncultured, 532, - Lactobacillus sp. , 143, - Fusobacterium sp., 248, - Uncultured, 198 - Clostridium sp., 185, - Helicobacter sp., 232 [186].

Кишківник новонароджених поросят заселяється переважно ентеробактеріями, ентерококами та іншими анаеробними організмами. Мікробіота, що колонізує слизову оболонку товстої і сліпої кишок поросят, в основному представлена Streptococcus - 48,9% і Bacteroides - 16,8% а кількість Lactobacillus становить всього лише 11,5%. Теля народжується з фактично стерильним шлунково-кишковим трактом. Таким чином, у молодняка спостерігається фізіологічний дисбаланс, що робить їх уразливими до шлунково-кишкових патологій [186].

Перші 5 ... 10 днів після відлучення від свиноматки - наступний кризовий період для поросят. Різка зміна раціону харчування змінює кислотність ШКТ, швидко зростає і розмножується патогенна та умовно-патогенна мікробіота. В процесі еволюції склалася мікроекологічна система кооперації автохтонної флори кишківника з одночасною чіткою диференціацією функцій між окремими видами мікроорганізмів, що дозволяє мікробіоті травного тракту виступати як єдине ціле, що забезпечує потреби всієї екологічної системи та організму хазяїна. Механізми взаємодії мікроорганізмів і макроорганізму, що забезпечують стабільність властивого йому мікробоценозів, приживлення автохтонної і елімінацію алохтонної мікробіоти, остаточно не з'ясовані. Але немає сумніву, що важливе значення в цих взаєминах відіграє адгезивна здатність автохтонної мікробіоти. Процес специфічної адгезії дозволяє на слизовій формувати видову строго

анатомічну біоплівку, що складається з муцину, бактеріального екзополісахариду і укладених в цьому матриксі мікроколоній бактерій, що забезпечує високу стійкість бактерій до несприятливих впливів [294].

Нормальний, або фізіологічний мікробіоценоз у сільськогосподарських тварин формується після потрапляння в організм мікробів від матері та з навколишнього середовища, при наявності особливих речовин з групи тетрасахаридів, які є потужними стимуляторами росту біфідумбактерій.

Фізіологічний симбіоз можливий при забезпеченні енергетичних і пластичних потреб як макроорганізму так і мікроорганізмів. Різні представники сапрофітної флори вимагають певних нутрієнтів відповідно до їх метаболізму. Біфідобактерії розщеплюють моно-, ди-, оліго- і полісахариди, можуть ферментувати білки, невивагливі до вмісту вітамінів, але потребують пантотенатів. Лактобактерії також використовують вуглеводи для енергетичних цілей, погано розщеплюють жири, білки, тому вимагають надходження амінокислот, жирних кислот, вітамінів. Ентеробактерії розщеплюють вуглеводи, існують лактозонегативні і лактозопозитивні штами, можуть утилізувати білки і жири. Таким чином, взаємини мікро- і макроорганізму носять складний характер, який реалізується на метаболічному, регуляторному, внутріклітинному та генетичному рівні, виходячи з чого можливі наступні шляхи корекції мікробіоти:

- бактеріотерапія з використанням еубіотичних мікроорганізмів;
- селективна деконтамінація;
- неспецифічна імуностимуляція;
- імунотерапія;
- загальна гнобіотична ізоляція [195].

Птиця відрізняються від інших сільськогосподарських тварин будовою травної системи, високою інтенсивністю метаболізму, важливу роль у якому відіграють ензими мікробіоти ШКТ. У момент вилуплення пташенят їх ШКТ

стерильний, він заселяється в перші години життя мікроорганізмами середовища. Молодняк птиці більш чутливий до колонізації патогенами саме через несформований мікробіоценоз кишківника [140, 319, 310, 369]. Нормальну мікробіоту організму, яку пов'язують із його здоров'ям, умовно поділяють на дві групи: облігатну (постійну, індигенну, автохтонну) і факультативну (транзиторну). Основні групи облігатної мікробіоти можуть існувати як у просвіті кишківника (порожнинна), так і утворювати біоплівки на поверхні ентероцитів, тісно зв'язуючись із рецепторами епітелію у глікокаліксі (пристінкова) [140, 9]. Вже з першого дня кишківник курчат колонізують такі мікроорганізми: *E. coli*, бактерії родів *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* [140, 136, 283, 421, 406]. Процес становлення стабільного кишкового мікробіоценозу у тонких кишках курчат триває 14–17 діб, у сліпих – 30 діб. Загалом зміни видового складу мікроорганізмів та їх співвідношення відбуваються впродовж 42 діб після вилуплення [140, 283] – в імунодепресивні періоди, які у постембріогенезі курчат-бройлерів припадають на: 3–5-, 12–20- та 42–45- доби [9, 283]. Так, концентрація лакто- і біфідобактерій, кількість яких у кишечнику 17 добових курчат найбільша, до 28 доби зменшується, і дуже важливо, щоб тут не домінували умовно-патогенні види [121]. Кількість ешерихій зі зниженою ензиматичною активністю може досягати 30–40 % [140].

З організмом тварини асоційовано сотні видів мікроорганізмів, однак більшість з них зустрічається в усіх видів тварин та птиці, змінюються лише кількісні показники. Це призводить до перевитрат кисню та зниження окисно-відновного потенціалу у просвіті кишок, що в свою чергу стимулює розвиток анаеробних бактерій. Оскільки у дорослої птиці в травний тракт з кормом потрапляє незначна кількість кисню, впродовж усього життя у складі мікробіоценозу переважають облігатні анаероби (95– 99 %), а аеробні та факультативно анаеробні види становлять 1–5% від загальної кількості мікроорганізмів [140].

Біфідобактерії – основні представники бактерій у кишечнику, вони складають 90–98 % від загальної кількості мікробів, знаходяться переважно у товстому кишечнику і є базисом пристінкової та порожнинної мікробіоти.

Лактобактерії заселяють різні відділи травного тракту, починаючи з ротової порожнини і закінчуючи прямою кишкою. Вони продукують лактат, лактазу, пероксид гідрогену, лізоцим, антибіотикоподібні сполуки, які пригнічують ріст умовно-патогенних мікробів та збудників гострих кишкових інфекцій, стимулюють фагоцитоз та синтез імуноглобулінів, формують колонізаційну резистентність [140, 464, 332, 435].

У процесі еволюції склалася мікроекологічна система кооперації мікробіоти кишківнику з одночасною чіткою диференціацією функцій між окремими видами мікроорганізмів, що дає змогу мікробіоті травного тракту виступати як єдине ціле. Це забезпечує не тільки стабільність мікробіоценозу всієї екологічної системи організму, а й потреби макроорганізму. Нормальна мікробіота має елементи саморегуляції і в певних межах здатна протистояти впливу шкідливих умов, зберігаючи чисельність мікробних популяцій. Особливо слід відзначити одну з найважливіших функцій нормальної мікробіоти – її участь у забезпеченні високого рівня природної резистентності макроорганізму. У разі втрати або зниження цієї функції ШКТ колонізується патогенними і умовно-патогенними мікроорганізмами [432].

Ешерихії (кишкові палички) перешкоджають патогенній мікробіоті заселяти стінку кишківнику. Як активні аероби, кишкові палички використовують з порожнини кишківнику кисень, тим самим створюючи комфортні умови для основних представників кишкової флори, продукують коліцини, які пригнічують ріст патогенних мікроорганізмів [140].

Бактероїди – анаеробні неспоротворні мікроорганізми, присутні в основному у товстому кишечнику, беруть участь у процесах травлення, декон'югації жовчних кислот, утилізують полісахариди.

Ентерококи, пептострептококи – кишкові стрептококи, не перевищують за кількістю кишкову паличку, утворюють гідроген, що перетворюється в порожнині кишечнику у пероксид гідрогену, та підтримують рівень рН 5,5 і нижче, продукують антибіотичні сполуки [140].

Зменшення кількості анаеробних представників індигенної мікробіоти створює умови для розвитку умовно-патогенних мікроорганізмів, які постійно потрапляють в організм птиці з кормом: ентеробактерій, стафілококів, грибків, протей, клостридій та інших. Ця транзиторна мікробіота за певних обставин спричинює захворювання птиці [471, 224].

Мікроорганізми, які живуть у травному тракті моногастричних, відіграють важливу роль у їхньому травленні. В результаті зброджування мікробіотою клітковини, крохмалю та інших компонентів корму в сліпій кишці утворюється від 14,5 мекв/100 моль до 18 мекв/100 моль низькомолекулярних кислот, а молярні співвідношення оцтової, пропіонової, масляної та молочної кислот залежать від складу вуглеводневої частини раціону. Близько 9–23 % енергії, необхідної для підтримки життєдіяльності організму, забезпечуються за рахунок летких жирних кислот (ЛЖК), що продукуються в товстому відділі кишечника свиней [286].

Мікробіота травного тракту свиней представлена багатьма фізіологічними групами і видами бактерій. За даними М.А. Тимошко та інших, у мікробіоті сліпої й великої ободової кишок лактобацили становили 28,5 % від виділених штамів, бактероїди – 26,8 %, стрептококи – 14,3 %, незброджуючі й зброджуючі вуглеводи палички – 10,7 % і 8,45 відповідно. Дослідниками встановлено, що в шлунку, клубовій і сліпій кишках поросят 4,5-місячного віку переважають лактобацили [219, 293, 365].

1.2 Біологічні властивості, за якими здійснюють відбір пробіотичних культур

Вперше термін «пробіотик» було використано у 1953 р. німецьким бактеріологом, гігієністом та нутрицевтикологом Вернером Коллатом (1892-

1970 pp.) для визначення органічних і неорганічних добавок, необхідних для відновлення здоров'я пацієнтів, які страждали від недостатнього харчування внаслідок введення до раціону надлишкової кількості високоочищених продуктів. [137]. Вчені М. Lilly та R.H. Stilwell у 1965 році описували пробіотики як мікробні фактори, що продукуються одними мікроорганізмами для стимуляції росту інших [272]. Вперше ізолював біфідобактерії і назвав їх *Bacillus bifidus communis* французький вчений А. Тисьє, який стверджував, що біфідобактерії можуть замінити протеолітичні бактерії, що викликають діарею [29].

За визначенням ФАО/ВООЗ, «пробіотики – це живі мікроорганізми, які при вживанні у відповідних кількостях позитивно впливають на здоров'я людини» [467]. Сьогодні пробіотичні культури важливий компонент для приготування комбікормів, адже їх позитивний вплив був неодноразово доведений. Пробіотики позитивно впливають на кишкову флору тварин, зменшують небезпеку виникнення в них шлунково-кишкових захворювань і таким чином підвищують їх продуктивність. Важливим поштовхом для застосування пробіотиків стали рекомендації та вимоги щодо обмеження використання антибіотиків у тваринництві, які використовують з терапевтичною метою.

Терапевтичні властивості пробіотичних препаратів безпосередньо визначаються біологічними особливостями мікроорганізмів, які є основою цих препаратів.

Тож, дослідження критеріїв та принципів відбору штамів мікроорганізмів для використання у якості пробіотиків є не лише вкрай актуальною, а й недостатньо розробленою науковою проблемою. Як правило, використовуються різні штами біфідо- та лактобактерій, непатогенні штами кишкової палички і ентерококів а спороутворюючих бактерій. В останні роки спороутворюючі бактерії роду *Bacillus*, як найяскравіші представники екзогенної мікробіоти, привернули увагу дослідників. Їх існує велика кількість, однак найкраще вивчені види *Bacillus subtilis* і *Bacillus*

licheniformis. Бактерії роду *Bacillus* продукують ферменти, амілазу, протеазу, що сприяє більш повному перетравленню корму та, відповідно, збільшує конверсію корму, а також в своєму складі містить глюкозу. *Bacillus subtilis* (сінна паличка) – аероб, росте і розмножується за доступу молекулярного кисню. Широко розповсюджений у навколишньому середовищі, утворює спори.

Штами мікроорганізмів, що є складовими пробіотиків, обов'язково мають відповідати певним вимогам: вони повинні володіти адгезивною активністю і антагонізмом до патогенної мікробіоти, бути резистентними до літичних ферментів слини і травних ферментів (лізоцим, ліпаза, пепсин), проявляти стійкість до дії кислоти шлункового соку і антибіотиків, мати вищу питому швидкість росту порівняно з мікроорганізмами - коменсалами. Крім того, штамп повинен бути стабільним на всіх стадіях технологічного процесу і проявляти імуномодуляторну та імуногенну дію. Даним вимогам можуть відповідати пробіотичні препарати, до складу яких входять живі бактерії з числа основних представників нормального кишкового біоценозу, такі як лактобацили, біфідобактерії, стрептококи та деякі інші [29].

Виділяють декілька груп мікроорганізмів, які залучаються до складу пробіотиків: біфідобактерії (*Bifidobacterium bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. breve*, *B. adolescentis*, *B. lactis*, *B. animalis*, *B. thermophilum*), лактобацили (*Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei* spp. *ramnosus*, *L. brevis*, *L. delbrueckii* spp. *bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. cellobiosus*, *L. curvatus*), лактококи (*Lactococcus* spp. *cremonis*, *L. diacetylactis*, *L. lactis* spp. *lactis*), кишкова паличка (*Escherichia coli*), ентерококи (*Enterococcus faecium*, *E. faecalis*), стрептококи (*Streptococcus salivarius* spp. *thermophilus*), пропіоновокислі бактерії (*Propionibacterium acnes*), бацили (*Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*), сахароміцети (*Saccharomyces boulardii*, *S. cerevisiae*) [140, 356, 276].

З розвитком сучасних біотехнологій одним із актуальних напрямів є створення комплексних пробіотичних добавок, що складаються з декількох різних штамів і видів мікроорганізмів. Така тенденція стає дуже перспективною, оскільки ці штами, доповнюючи один одного, виявляють більш ефективну синергічну, профілактичну та метаболічну дію, порівняно з монотерапією. Сучасні вимоги європейського регуляторного законодавства в галузі пробіотиків передбачають необхідність проведення всебічних досліджень біологічної активності як окремих пробіотичних культур, так і їх поєднань при створенні пробіотичних добавок на основі монокультур лакто- та біфідобактерій чи їх різних комбінацій [253].

Штами в складі пробіотичних препаратів відбираються за вираженістю антагоністичних властивостей до патогенної мікробіоти. Вони продукують велику кількість антибіотичних та інших речовин, що пригнічують багато мікроорганізмів.

Відновлення нормальної чисельності МКБ є однією з важливих складових лікування та профілактики шлунково-кишкових захворювань людини і тварин. Важливою умовою ефективності такого лікування є прикріплення МКБ до клітин епітелію шлунково-кишкового тракту макроорганізму. Це дає їм змогу впливати на процеси відновлення муцинів передепітеліального слизового бар'єру та функціонування епітеліальних клітин, їхніх структурних компонентів і міжклітинних взаємозв'язків, що покращує захисні властивості слизової оболонки кишківника. Такий вплив забезпечує також зменшення адгезії, інвазії та транслокації патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів до внутрішнього середовища організму [353]. Адгезія молочнокислих бактерій – складний процес, у якому задіяні як специфічні (ліганд-рецепторні), так і неспецифічні (гідрофобні, електростатичні) взаємодії між мікробними клітинами і епітеліоцитами. Як адгезини слугують ліпотейхоєві та тейхоєві кислоти, що є компонентами їхньої клітинної стінки, або лектини, а також колаген, фібронектин, ламінін, олігосахаридні ланцюги, манозоспецифічні рецептори [184]. Молекулярні

механізми, що забезпечують адгезію молочнокислих бактерій до клітин епітелію, на сьогоднішній день повністю не вивчені. Рядом досліджень показано, що рецептори молочнокислих бактерій, відповідальні за цей процес, мають білкову або карбогідратну природу, опубліковано дані про участь у цьому процесі ліпотейхоєвих кислот [333, 417]. Вочевидь, адгезія молочнокислих бактерій є специфічною і залежить від рецепторів конкретного штаму та рецепторів клітин епітелію певного макроорганізму. Таким чином, більшість авторів сходяться на думці, що для корекції кишкової мікробіоти тварин доцільно використовувати бактерії, виділені від тварин того ж виду.

Основною вимогою до мікроорганізмів, що застосовуються у виробництві харчових та кормових продуктів, є те, що вони не повинні бути вірулентними, не продукувати токсини та інші шкідливі метаболіти і не містити в своєму геномі мобільних факторів патогенності (плазмід, транспозонів, вірусів) – тобто належати до IV групи патогенності (GRAS) (Generally Recognized as Safe, – у цілому безпечні). До таких мікроорганізмів власне і належать молочнокислі бактерії особливо представники родів *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, а також *Propionibacterium*. Їхня безпечність, дієтична та певна оздоровча дія перевірена багатовіковою практикою. Проте не всі ці мікроорганізми можуть розглядатися як пробіотичні тому постійно здійснюється пошук та селекція функціонально активних штамів з різноманітною біологічною активністю [253].

Сьогодні серед спеціалістів досягнуто згоди у тому, що функціональні можливості окремих пробіотиків є унікальними і, що корисна дія, яка буде отримана при споживанні продуктів з певним пробіотичним штамом, не може переноситись на інші штами, навіть у межах того ж самого виду.

В останні роки в Україні активно досліджуються принципи виготовлення та використання пробіотичних препаратів та культур у тваринництві та птахівництві [210]. Українськими дослідниками провадиться оцінка доцільності використання різних мікроорганізмів для вирощування

бройлерних курчат [201], кролів [248], свиней [186], телят [142], тощо. На основі комплексних імунологічних, мікробіологічних, біохімічних досліджень встановлено біотехнологічні критерії відбору потенційно пробіотичних штамів бактерій.

Необхідно відзначити, що традиційні методи селекції промислових штамів лакто- та біфідобактерій, які базуються на доборі цінних варіантів із природних джерел або за допомогою індукованого мутагенезу, при колосальній трудомісткості іноді не дозволяють досить ефективно одержувати модифіковані штами з необхідним набором біотехнологічних властивостей. Одним із перспективних напрямів у створенні промислових штамів із заданими характеристиками є генно-інженерні дослідження, що вже проводяться багатьма лабораторіями. В останні роки в селекційній роботі все частіше використовують протопласти мікроорганізмів. В цілому дані, отримані на цей час різними дослідниками, свідчать про перспективність методів одержання, регенерації і злиття протопластів, трансформації клітин бактерій з метою конструювання штамів із поліпшеними біологічними властивостями. Такі дослідження проводяться і українськими спеціалістами, зокрема щодо біфідобактерій [199].

1.2 Обґрунтування і результативність використання пробіотиків у годівлі сільськогосподарських тварин

Без використання пробіотиків неможливо проводити профілактику з попередження розладів травлення, особливо для молодняка, які мають не досконалий тип травлення. Використовуються їх як в монотерапії, так і в комбінаційній терапії, а іноді є єдиним лікуванням. Останнім часом інтерес до пробіотиків в різних галузях тваринництва значно зріс. Ці препарати привертають увагу відсутністю вираженої токсичності, своїм позитивним впливом на організм тварини.

Численними дослідженнями [194, 199, 292, 400, 410] – і іншими відмічена позитивна дія пробіотиків на організм тварини, а саме: профілактика і

лікування шлунково-кишкових хвороб; лікування при розладах ШКТ аліментарної етіології (діарея, дисбактеріози, ацидоз та ін.), відновлення мікробіоти травного тракту після лікування антибіотиками; поліпшення процесів травлення, прискорення адаптації тварин до високоенергетичним раціонів і небілкових азотистих речовин, підвищення ефективності використання корму і продуктивності тварин; стимуляція всіх форм імунітету.

За промислового вирощування ВРХ, поросят та птиці ШКЗ є основною причиною загибелі молодняка, завдаючи значних економічних збитків. Спроби перевести проблему ШКЗ тварин і птиці, що викликаються умовно-патогенними кишковими мікроорганізмами, в площину інфекційної патології, посилили роль антибактеріальної терапії, завдяки чому при лікуванні шлунково-кишкових хвороб молодняка стали широко використовувати антибіотики, світовий досвід застосування яких показав, що в даній ситуації вони не володіють належною ефективністю.

Безконтрольне застосування антибактеріальних засобів, викликало посилення мінливості циркулюючих в господарстві бактерій і розвиток у них множинної медикаментозної резистентності.

До досягнень сучасної біотехнології слід віднести розробку цілого асортименту продукції на основі пробіотиків, пребіотиків і симбіотичної мікробіоти для виробництва кормового білку і лікарських засобів за рахунок мікробного синтезу; розробка ефективних імуномодуляторів і імуностимуляторів та детоксикантів; оздоровлення організму тварин і людини, хоча на сьогоднішній день технології застосування і дозування ще не до кінця відпрацьовані [19].

Штами ешерихій, сальмонел, пастерелл, шигел, псевдомонад, що циркулюють в господарствах, з часом набувають лікарську резистентність до основних груп антибіотиків. Циркуляція в господарствах таких мікроорганізмів становить серйозну загрозу благополуччю молодняка промислового стада. Тому протягом двох останніх десятиліть у світі різко

зріс інтерес до використання препаратів, що містять природну мікробіоту кишечника - пробіотиків, які мають різноманітним фармакологічною дією, в тому числі антагоністичну активність по відношенню до патогенної та умовно-патогенної мікробіоти.

Пробіотичні препарати, розроблені на основі лактобактерій, біфідобактерій, стрептококів, є ефективними засобами корекції кишкового мікробіоценозу [129, 200, 218, 271].

Відомо, що нормальна мікробіота травного тракту виконує надзвичайно складну фізіологічну, імунологічну і антагоністичну функції. Одна з найважливіших функцій нормальної мікробіоти - забезпечення колонізаційної резистентності макроорганізму, що перешкоджає заселенню шлунково-кишкового тракту патогенної і умовно-патогенною мікробіотою [273, 309, 312, 317, 327].

В даний час на основі нормальної мікробіоти кишечника - лактобактерій, біфідобактерій, стрептококів розроблено цілий ряд препаратів, які використовують для підтримки і відновлення біоценозу травного тракту, а також в якості ефективних лікувально-профілактичних засобів при шлунково-кишкових захворюваннях птахів [21, 200, 216].

Ці препарати забезпечують: нейтралізацію токсинів; пригнічення патогенної та умовно патогенної мікробіоти; прямий антибактеріальний вплив; зниження адгезії патогенної та підвищення активності корисної мікробіоти; активність імунних клітин. Молочнокислі бактерії одними з перших заселяють кишковик після народження тварини і знаходяться в ньому протягом усього життя, будучи обов'язковим компонентом кишкової мікробіоти [27, 132, 315].

Бажов Г.М. та інші застосовували три види пробіотиків: гастробакт в дозі 3 мл в день на голову; полілак в дозі 3 мл в день на голову і целлобактерін по 0,2 % від маси корму [19]. Добавка в корм гастробакта практично не чинила впливу на швидкість росту молодняку і навіть збільшувала витрати корму в порівнянні з контролем на 0,25 к.од. (4,8%).

Введення ж препаратів полілак і целлобактерін збільшувало абсолютний приріст по кожній голові на 8,3-11,1, а більш високий вплив до 15,3% препарати чинили на ослаблений молодняк. Найбільший ефект дала технологія вирощування з препаратом целлобактерін (жива маса в 4 місяці - 29,8 кг, витрати корму - 5,41 к.од.). Поросята, які показали кращу швидкість росту, відрізнялися від однолітків і великим вмістом еритроцитів, гемоглобіну і загального білка на 13,0-18,4% і ін. [19].

Кисломолочна добавка "Тибетський грибок" проявляє корегуючі властивості на мікробіоту кишечника через підвищення антагоністичних властивостей нормомікробіоти кишечника, що підтверджено відсутністю патогенних мікроорганізмів та кількісним зростанням біфідо- та лактобактерій - представників нормомікробіоценозу кишечника, містить симбіотичну культуру "тибетський грибок" (*Sacharomyces*, *Canddida kefir*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc lactis*, *Lactobacilus* і оцтовокислі бактерії). Зазначені штами мікроорганізмів містяться у такій кількості, КУО/см³: дріжджі: *Sacharomyces* і *Canddida kefir*-10⁴; молочнокислі бактерії: *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc lactis*, *Lactobacilus*-2×10⁸; оцтовокислі бактерії - 10³ [39, 40].

Застосування ацидофільного молока - кисломолочного продукту, що готується з використанням культури ацидофільної палички, з додаванням або без додавання дріжджів. Згодовування «Ацидофіліна» поросятam і телятам сприятливо позначилося на збільшенні їх живої маси. Збереження поросят становило 93,4%, випадків падіжу через ШКЗ було менше, ніж в контрольній групі на 15% [302].

Пробіотична кормова добавка *Probion-forte* у рекомендованих виробником дозах і тривалості застосування, сприяє кращому засвоєнню комбікорму та поступовому збільшенню маси тіла поросят, по відношенню до контролю [122].

У світовій практиці для профілактики гастроентеритів у поросят, використовується препарат *BIO-MOS*, який покращує перетравлення й

використання кормів у свинарстві. Ця добавка запобігають розладу травного тракту, позитивно впливає на збереження молодняку під час вирощування, підвищує приріст тварин і знижує витрати корму на кілограм приросту живої маси [145, 202, 234, 271, 326].

Молочнокислі бактерії домінують поміж бактерій пробіотиків, здатних позитивно впливати на організм тварин [170].

Поросята, які одержували молочнокислі бактерії, відносно краще (на 3–5 %) використовували азотисті поживні речовини порівняно з тими, які їли звичайний корм [130].

Спостерігався позитивний вплив згодовування свиноматкам препарату молочнокислих бактерій у дозі 50 млрд. бактеріальних клітин на голову за добу протягом 10 діб перед опоросом і через 5 діб – після нього, у поєднанні з вітаміном Е (50 мг на голову за добу), на масу гнізда, ріст і збереженість поросят. Добавка у дозі 2 млрд. бактеріальних клітин на голову молочнокислих бактерій слаборозвиненим поросяткам-сисунам сприяла їх росту і збереженості. Включення пробіотика в дозі 4 млрд. бактеріальних клітин на голову за добу підвищувало приріст живої маси на 50 % порівняно з контролем [429].

Біологія молочнокислих бактерій дає змогу використовувати окремі з них для виробництва пробіотиків. Вплив їх на організм людини чи тварини визначається певними властивостями заквашувальних культур, а саме: активним функціонуванням лактобактерій у такому агресивному середовищі як травна система; здатністю їх до адгезії на клітинах епітелію кишкового антимікробною активністю [289].

Одним із найважливіших показників біологічної активності молочнокислих бактерій є їх здатність запобігати розвитку небажаної мікробіоти, усувати різні дисбіотичні порушення нормофлори макроорганізму, що виникають в умовах широкого застосування антибіотичних препаратів, лікувати гострі кишкові інфекції, харчові алергії тощо [279].

Препарати на основі молочнокислих бактерій, продукуючи вітаміни групи В, молочну кислоту і лізоцим, проявляють антиоксидантні та імуномодельюючі властивості [144].

На основі *L. bulgaricus* і *L. fermentum* створений комплексний пробіотичний препарат «Біфітрілак», який стійкий до дії більшості антибіотиків, і використовується при лікуванні шлунково-кишкових захворювань тварин [265].

Пробіотики також використовують для лікування анемії та аліментарної остеодистрофії. Встановлена лікувальна ефективність пробіотиків Лактобактерину, Ентеробіфідіну при шлунково-кишкових захворюваннях новонароджених поросят [180].

Згодовування молодняку свиней бактеріальних препаратів лактину К–10 та лактоміну впливає на зниження показника рН хімусу дванадцятипалої кишки, лактин К–1 з ферментним препаратом мацеразою підвищує показник рН вмістимого ободової кишки. В інших складових частинах кишківника, згодовування препаратів не викликає вірогідних змін показника рН їх вмісту [23].

Бактеріальні препарати створені працівниками Науково-біотехнологічного центру "Ензифарм" (м. Ладижин Вінницької області). До їх складу входять спеціально відселекціоновані штами *Streptococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus bulgaricus* та інші. Ці препарати стабілізують захисні сили організму, пригнічують ріст хвороботворних мікроорганізмів, продукують ряд амінокислот, вітаміни групи В, а також запобігають шлунково-кишковим захворюванням молодняку тварин, стимулюють його ріст і розвиток [24, 56, 129, 181].

Субботин, В.В. [285] довів, що пробіотик «Біфідобактерин» ветеринарного призначення сприяє ранньому становленню нормального кишкового мікробіоценозу, підтримці колонізаційної резистентності ШКТ поросят, знижує захворюваність тварин шлунково-кишковими хворобами на

22-24%, і підвищує середню масу тіла одного 42-45 - денного поросля на 0,8-1 кг.

Відмічено позитивний вплив окремих штамів біфідобактерій і вітаміну К на інтенсивність росту і збереження порослят до двомісячного віку [189, 260].

Досліджуючи пробіотичний потенціал штаму *Lactobacillus casei subsp. pseudoplantarum* LBR 33/90 [292] Тараканов, Б.В. ті ін. - встановили лікувально-профілактичну дію препарату при шлунково-кишкових хворобах телят і порослят. Його застосування охороняло від діареї 51-57% новонароджених тварин, а при її виникненні послаблювало тяжкість перебігу хвороби і на 1,3-3 доби скорочувало її тривалість, підвищуючи збереження молодняку на 5-6% (з 87,0-90,7% до 93-96,3%).

Застосування пробіотиків «Біохелп» и «Лактімет» впливає на вміст лакто- і біфідобактерій у порослят-сисунів.: кількість лакто- і біфідобактерій рівномірно підвищувалась починаючи з 7-го до 42 дня – з $3,05 \times 10^6 \pm 0,682 \times 10^6$ до $6,23 \times 10^9 \pm 1,697 \times 10^9$ КУО/г, а також впливають на вміст аеробних бактерій в фекаліях, до яких відносяться ешеріхії, сальмонели, протей, стафілококи, бацили [1, 22, 110, 289, 290].

Препарат «нормофлор», основу якого складає штам *L. bulgaricus* (LB-51) при згодовування порослятам з 7-денного віку до відлучення в 45 днів і свиноматкам з дня опоросу протягом 7 днів в дозі 6 мг / кг живої маси підвищує збереження порослят на 15,5% [203].

Згодовування пробіотику Протекто-актив молодняку свиней в дозі 2 г на 10 кг маси тіла протягом 30 діб підвищує їх продуктивність на 7,3% і збереженість на 3,3 % проти контролю [191].

Пробіотичні препарати Мультибакрин, що містить лактобактерії та Імунобактерин-Л, до складу якого належить *B. subtilis*, *B. Licheniformis* впливає на неспецифічну резистентність, збереженість та продуктивні якості порослят. За весь 30-денний період досліджень група порослят, що отримувала Мультибактерин досягла 19 кг та мала вищі показники живої маси порівняно з іншими. У свою чергу імунобактерину-Л сприяв кращим показникам

приросту поросят (590 г) до 14-денного віку, що підкреслює суттєве підвищення молочності свиноматок при його згодовуванні у цей період [192, 193, 281, 245, 330]. Подібні результати було отримано при застосуванні пробіотику, заснованого на трьох штаммах *Bacillus subtilis*, який сприяв кращому споживанню корму, збільшенню ваги та конверсії корму [337, 314].

Під впливом Ентероспоріна відновлюється баланс між сапрофітної і резидентної мікробіотою ШКТ, порушений під впливом мікотоксинів: підвищується вміст біфідобактерій, лактобацил, пригнічується розмноження умовно-патогенної мікробіоти. Використання пробіотику Ентероспорін при мікотоксикозах перешкоджає розвитку осередкового некрозу слизового шару тонкого кишечника [280, 201, 297, 298, 404].

Використання пробіотиків «Вітафорт» і «Ветом» в раціонах поросят сприяло росту чисельності в їх кишківнику біфідо- і лактобактерій. Збільшення біфідо-і лактобактерій, які у взаємодії з іншими, в тому числі і з умовно-патогенними мікроорганізмами (стафілококами, клостридіями, ентерококами, кишковою паличкою, дріжджами та плісінню), впливають на них антагоністично, перешкоджаючи надмірному їх розмноженню і тим самим сприяють підвищенню стійкості організму поросят- до кишкових захворювань [3, 221, 231, 232].

Пробіотик Мікроцікол є ефективним засобом підвищення продуктивності і поліпшення якості м'яса в. Показано, що при використанні пробіотику падіж зменшився на 6,9%, середня жива маса одного бройлера збільшилася на 0,44 кг. При цьому в м'ясі бройлерів, які отримували Мікроцікол, збільшився вміст протеїну з 15,9-16,1 до 14,6% і зменшився- жир (з 16 до 14,7-14,8%). Білково-якісний показник м'яса з 9,7 до 10,1-10,3 підвищився. Що стосується субпродуктів (серце, печінка), то в них істотно знизився вміст вологи і жиру (з 11,3 до 9,7%), тоді як рівень протеїну підвищився з 10,8 до 14,7-15,3% [295].

Вивчено вплив пробіотику **Олін** на телят при ШКЗ. Встановлено, що пробіотик має профілактичну і лікувальну ефективність при хворобах телят з

синдромом діареї. У тварин дослідних груп збільшувалися жива маса і середньодобові прирости в порівнянні з контролем на 4,7- 4,9% і 11,99-13,05 відповідно [154].

Колесніковою було досліджено застосування *лактоаміловоріна* і йодиду калію в раціонах птиці, яке сприятливо відбилося на досліджуваних показниках м'ясної продуктивності. Жива маса курчат дослідної групи перевищувала контрольних на 12,5%. Несуттєві відмінності спостерігалися щодо їстівної частини до неїстівної, і забійним виходом між двома досліджуваними групами [437].

Застосування *Lactobacillus acidophilus* курчатам бройлерам істотно збільшує масу тіла, знижує кількість коліформних бактерій в сліпій кишці, значно збільшує загальну кількість летючих жирних кислот в клубової і сліпої кишках і знижує значення рН сліпої кишки. Таким чином, відновлюється мікробіоценоз кишечника, за рахунок пригнічення патогенної і умовно-патогенної мікробіоти, а також підвищується продуктивність птиці.

Застосування пробіотичного штаму *Enterococcus faecium* NCIMB 11181 свиням протягом 2-х тижнів характерним було підвищено чисельність *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Oscillibacter*, *Succinivibrio* і *Clostridium* і знижені рівні бактерій роду *Escherichia* і *Dialister*, а саме відбувається модулювання фекальної мікробіоти поросят [433, 472].

Пробіотик *Lactobacillus plantarum* B2984 в раціоні поросят пригнічував ріст патогенної *S. typhimurium* [358, 430].

Харчова добавка на основі молочнокислих бактерій телят впливала лише на кінцеву вагу тіла та не було виявлено споживання корму та щоденного приросту маси тіла [341].

Додавання комплексу *L. reuteri* та *L. plantarum* та *Pediococcus acidilactici* NRRL B-5627, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CECT 539, *Lactobacillus casei* subsp. *casei* CECT 4043 and *Enterococcus faecium* CECT 410) поросят вагою $7,90 \pm 0,92$ кг сприяло кращому перетравленості корму

та збільшення чисельності *Lactobacillus* у фекаліях, та зниження чисельності *E. coli* [380, 392, 456, 470, 473].

Перевірка дії пробіотику дріжджів (*Saccharomyces cerevisiae* I-1077) в період ранньої лактації коровам показала позитивний вплив на споживання сухої речовини, продуктивність молока його склад [382].

Пробіотичний штам *L. plantarum* є стимулятором росту 25-39-денним поросят у яких покращувалось споживання корму, збільшувались середньодобові прирости [392, 343]. Штам *L. plantarum* ZJ316, який було вилучено із фекалій дітей також стимулював ріст поросят та позитивно впливав на якість свинини [460]. Подібні результати були отримані при додавання поросят препарату Paciflor® А та LactoPlanta® [352,453].

Отже, все це вказує на нагальну потребу розробки біологічних методів захисту тварин із застосуванням пробіотиків від бактеріальних ентеротоксинів, утворених стафілококами, бацилами, клостридіями та ентеробактеріями.

1.4 Критерії добіру мікроорганізмів для ферментації м'ясної сировини

Одним із перспективних напрямів інтенсифікації виробництва ферментованих м'ясних продуктів є застосування бактеріальних препаратів. Вони дають змогу певною мірою контролювати перебіг біохімічних перетворень м'ясної сировини і збалансувати співвідношення у продукті вітамінів, протеїнів та незамінних амінокислот, підвищуючи тим самим біологічну цінність та санітарно-епідеміологічну безпеку готової продукції. Особливо важливим чинником під час виготовлення м'ясних продуктів тривалого зберігання, що їх вживають без будь-якої додаткової температурної обробки, зокрема для сиров'ялених, сирокочених ковбас, шинки, є здатність до пригнічення сторонньої мікробіоти [66].

Відомо, що під час дозрівання ферментованих м'ясних продуктів переважають такі основні паралельні і взаємопов'язані процеси: [66]

1. зниження рН в результаті зброджування цукрів фаршу специфічної мікробіотою або прямим внесенням кислих інгредієнтів;
2. пригнічується розвиток небажаної мікробіоти;
3. утворення характерного забарвлення завдяки відновленню нітриту і його збереження при розщепленні H_2O_2 ;
4. формування смаку і аромату в результаті інтенсивних біохімічних перетворень компонентів м'ясної сировини мікробіотою.

Швидкоплинність сучасного життя не оминула й виробництво ферментованих м'ясних продуктів. Все частіше деякі м'ясні комбінати, прагнуть за мінімальний час отримати максимальний результат, включають у виробу інноваційні інгредієнти - прискорювачі дозрівання. Завдяки їм процес формування властивостей, притаманний кожному конкретному виду продукту, 1-2 скорочується на тижні.

Технології ферментованих м'ясних продуктів передбачають використання багатофункціональних добавок, що містять спеціальні штами мікроорганізмів спрямованої дії (заквашувальні культури), які регулюють біохімічні процеси, що формують якість готового продукту. Основні функції заквашувальних культур [393]:

- кислотоутворення / зниження рН;
- формування кольору і забезпечення стійкості забарвлення;
- утворення характерних смако-ароматичних сполук;
- відновлення нітритів;
- забезпечення високих санітарно-епідеміологічних характеристик.

Одним з головних чинників формування органолептичних показників з ферментованих продуктів є мікробіологічні процеси. Поліпшення смакових і ароматичних властивостей копчених ковбас досягається за допомогою спрямованого вибору мікробіоти [359, 393].

Для створення бактеріальних препаратів проводять скринінг штамів, які мають цінні для промислової ферментації м'яса властивостями.

Пошук технологічно перспективних штамів для бактеріальних препаратів, особливо для ферментації м'яса, є складним і тривалим процесом, який потребує новітніх підходів. Мікроорганізми вилучають із різних природних джерел (свіжої м'ясної сировини, фаршу, м'ясних, молочних, кисломолочних продуктів, овочів, фруктів, розсолів та сумішей для посолу), здійснюють селекцію у бажаному напрямі, застосовуючи як традиційні, так і сучасні генетичні методи. Технологічно перспективні штами становлять основу бактеріальних препаратів для сухого або мокрого посолу м'яса, безпосередньої ферментації м'ясної сировини, а також для збагачення біологічно активних добавок. Бактеріальні композиції можуть бути різними за складом — одно- і багатокомпонентними. Останні можуть містити кілька штамів одного виду або комплекс різних мікроорганізмів, зокрема таких родів, як *Pediosoccus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, а також родин *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae*. Для того, аби створити ефективні бактеріальні композиції, пошук мікроорганізмів проводять за певними критеріями [66, 336, 348].

Однак чітко визначених правил для вибору культур не існує, і кожен дослідник пропонує для цього свій власний алгоритм. Загальним є те, що культури мають бути непатогенними, нетоксикогенними і технологічними. Позитивною ознакою вважають нездатність культур утворювати небезпечні аміни (гістамін, тирамін, кадаверін, путресцин) та сірководень. Молочнокислі бактерії, які залучають до складу бактеріального препарату, не повинні утворювати пероксид водню, газ, а також оцтову кислоту [348, 351, 374, 382, 419].

Потенційна роль мікроорганізмів з амінооксидазною активністю, використовуваних в ферментації продуктів харчування, полягає в припиненні або зниженні акумулювання біогенних амінів в їжі. Тому амінооксидазна активність розглядається як важлива характеристика при селекції стартових культур, використовуваних при виробництві ферментованих продуктів.

Загалом до складу препаратів для ферментації м'ясної сировини мають входити мікроорганізми, які за технологічними і біологічними властивостями тісно пов'язані між собою. До таких властивостей належать [66]:

- ступінь кислотоутворення;
- ріст у широкому діапазоні температур від 0°C до 30 °C;
- стійкість до високих концентрацій NaCl (до 15 %);
- нітритредукувальна активність;
- каталазна активність,;
- протеолітична активність;
- ароматоутворювальна активність;
- висока антагоністична активність щодо санітарно-показової мікробіоти, яка присутня у м'ясній сировині (*Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus* spp.)
- безпечність культур, яка оцінюється за непатогенністю, нетоксичністю та невірулентністю;
- генетична стабільність;
- висока швидкість росту при культивуванні і здатністю синтезувати потрібні метаболіти в необхідній кількості.

Пошук та добір культур під час створення бактеріального препарату для ферментації м'яса — складний багатостадійний процес. І якщо раніше за мету ставили універсальність, то на сьогодні прийшло розуміння: «кожному продуктові — свої мікроорганізми». Бактеріальні препарати містять культури мікроорганізмів, живі або у стані анабіозу, які виявляють бажану біологічну активність на ензиматично обробленому субстраті. Для повноцінного функціонування бактеріальні культури мають бути адаптовані до певної сировини і технології та задовольняти органолептичним уподобанням місцевих споживачів [66].

На думку Рараманолі [414], Talon et al. [462], оптимальний заквашувальний препарат для ензиматично обробленого м'ясного продукту

має складатися не тільки з молочнокислих бактерій (гомоензиматичних лактобацил і/ або педіококів), а й грам- та каталазопозитивних коків. Серед останніх перспективними є непатогенні стафілококи, які характеризуються широким спектром біохімічної активності, що здатна забезпечити притаманні для ензиматично оброблених м'ясних виробів органолептичні характеристики.

Авторами запропоновано відбирати культури для створення бактеріальних препаратів за такими властивостями: високий ступінь кислотоутворення; антагонізм щодо патогенних мікроорганізмів; утворення значної кількості летких жирних кислот, карбонільних сполук [4, 304, 329, 347]. Також вважають за доцільне у разі відбору штамів для промислових потреб надавати перевагу культурам, які мають високу продуктивність (вихід сухої біомаси 1,5–2,0% від об'єму культурального середовища). Встановлено, що мікроорганізми з високою декарбоксилазною активністю здатні утворювати небезпечні біогенні аміни (БА): гістамін, кадаверин, путресцин, тирамін, триптамін, β -фенілетиламін. На стадії дозрівання в ензиматично обробленому продукті складаються найсприятливіші умови для утворення БА: інтенсивний ріст мікробної популяції сприяє кислотоутворенню та протеолізу, що збільшує кількість вільних амінокислот, доступних для декарбоксилювання [66, 206, 415]. У межах європейського проекту Tradisausage було проведено дослідження 54 різновидів ковбас (із 6 країн), у 37 із них загальний вміст БА був більший, ніж 150 мкг/кг. Такі продукти вважаються низькоякісними і можуть бути фактором ризику для здоров'я споживача. Досліджуючи ковбаси чоризо, Gonzalez-Fernandez C. et al. встановили, що застосування заквашувальних штамів з низькою декарбоксилазною активністю, які під час ферментації можуть швидко знижувати рН і домінувати впродовж всього технологічного циклу, запобігає накопиченню БА у готовому продукті [388]. Також до зменшення рівня акумульованих у продукті БА здатні культури, що мають ензим аміноксидазу, який каталізує окиснювальне дезамінування амінів з

утворенням альдегідів, аміаку та пероксиду водню. Отже, важливо і необхідно вводити до складу заквашувальних препаратів культури з мінімальним аміногенним потенціалом. В останні роки у зв'язку з розповсюдженням серед мікроорганізмів явища антибіотикостійкості підвищену увагу приділяють такому важливому критерію у доборі культур для харчової промисловості, як відсутність резистентності до антибіотиків [66, 447, 448]. Враховуючи ймовірність горизонтального перенесення плазмідами гена антибіотикорезистентності від заквашувальних штамів до патогенних мікроорганізмів, вважають за доцільне проводити попереднє оцінювання культур для виявлення природної та набутої стійкості до антибіотиків [66, 424, 441, 451, 458]. Для ферментації м'ясної сировини не завжди можна застосовувати штами, ізольовані безпосередньо з продуктів спонтанної реакції. За відсутності даних про конкретний внесок кожної складової мікробного угруповання у визрівання м'ясних продуктів часто перебільшують роль того чи іншого бактеріального компонента. Окремий штам, який утратив свою природну супутню мікробіоту, не завжди може ефективно інтродукуватись у мікробний ценоз м'ясної сировини. Це зумовлює зниження його активності або навіть призводить до повного елімінування. Тому необхідною умовою є створення стійких симбіотичних композицій, у яких складники перебувають у тісному зв'язку. Вдалим вважають поєднання анаеробних молочнокислих бактерій та аеробних коагулазонегативних коків. Характерними ознаками перших є утворення органічних кислот, низькомолекулярних карбонільних сполук, а других — зниження вмісту кисню і, як наслідок, створення сприятливих умов для розвитку лактобактерій. Коагулазонегативні коки (КНК) істотно перевершують лактобактерії за рівнем синтезу смакоароматичних сполук, протеолізу та ліполізу [346, 372, 414]. Мікроорганізми, особливо КНК, відіграють значну роль у формуванні та стабілізації забарвлення готового продукту. Утворення рожево-червоного кольору посоленого м'яса відбувається завдяки тому, що молекули води, які зв'язані з іонами

двовалентного заліза міоглобіну, вступають в реакцію заміщення з оксидом азоту, що утворюється в результаті відновлення нітриту натрію. Ця реакція каталізується NO-нітритредуктазою певних видів денітрифікувальних бактерій. Отже, наявність нітритредукуючої активності також є бажаною ознакою під час вибору заквашувальної мікробіоти для ензиматично оброблених ковбас. Перспективним видом вважають *S. xylosus*, штами якого мають високий рівень цієї активності [66, 339].

Під час виробництва м'ясних продуктів використовують специфічний штам *S. carnosus*, головна функція якого полягає у відновленні нітриту натрію з утворенням оксиду азоту. Денітрифікуючі штами мікроорганізмів для м'ясопереробної галузі дозволяють знизити концентрацію нітриту до залишкового рівня 3–5 мг % при введенні в рецептуру 7,5–13,0 мг %.

Іншими вченими встановлено, що біотехнологічна обробка м'ясної сировини культуральною рідиною, яка містить життєздатні клітини, має суттєвий вплив на прискорення процесу дозрівання сировини і формування функціонально-технологічних властивостей під час посолу, покращує вологозв'язуючу здатність фаршу, якісні характеристики готових продуктів, інгибує окислювальні процеси, надає виробам антімутагенної активності відносно мутагенезу, індукованого азидом натрію у м'ясному середовищі [329].

Не менш важливою для заквашувальних культур є наявність антиоксидантних ензимів: супероксиддисмутази (нейтралізує O_2 – радикали) та каталаз (розщеплюють пероксид водню до води та молекулярного кисню), що запобігає окисненню ненасичених жирних кислот [256, 342, 454]. В експериментах із *S. carnosus* встановлено збільшення активності антиоксидантних ензимів упродовж стаціонарної фази росту, а також зменшення рН у присутності кисню або нітратів/нітритів — такі умови характерні для процесу виробництва ензиматично оброблених виробів. Отже, для запобігання прогірклості жирів та знебарвлення продуктів доцільно проводити добір серед стафілококів за рівнем антиоксидантної активності.

На смакоароматичні характеристики ензи матично оброблених м'ясних продуктів впливають різні чинники: походження, якість і тип інгредієнтів (передусім м'ясної сировини), а також технологічні режими та тривалість стадій виробництва, видовий склад мікроорганізмів. Смак, притаманний сиров'яленим і сирокоченим виробам, — це специфічне поєднання присмаку, що зумовлений переважно наявністю молочної кислоти, низки пептидів та вільних амінокислот і аромату, який утворюють леткі сполуки, що вивільняються внаслідок життєдіяльності мікробіоти. Участь мікроорганізмів у формуванні смакоароматичного букета пов'язана з утворенням певних амінокислот, летких жирних кислот, ароматичних карбонільних сполук. До основних смакоароматичних сполук належать діацетил, 3-метилбутанол як попередник ароматоутворення речовин, метилкетони і складні ефіри етилу, продукти розпаду протеїнів, зокрема пептиди, у тому числі гіркі, амінокислоти та сірковмісні сполуки. Значну роль у забезпеченні необхідної кількості смакоароматичних сполук, гарантування якісного та стабільного забарвлення у разі тривалої ферментації сухих ковбас відіграють також і дріжджі та грампозитивні коки. Ці мікроорганізми відрізняються від молочнокислих бактерій істотно вищою протеолітичною, нітритредукувальною, каталазною і ліполітичною активністю [66, 401, 450]. Для традиційної продукції, що виробляється у країнах Північної Європи, головними смакоутворювальними складовими є копильні компоненти і молочна кислота. Для м'ясних продуктів середземноморського типу основними чинниками утворення аромату та смаку виступають продукти протеолізу та ліполізу, які зумовлені активністю тканинних і мікробних ензимів [261, 362, 426]. Зокрема, катепсин-D-подібні ензими сприяють накопиченню пептидів під час ферментації, тоді як інші протеази більшою мірою гідролізують їх на стадії дозрівання. Demeyer et al. встановили, що тканинні ензими передусім ініціюють розщеплення саркоплазматичних протеїнів, а бактеріальні — міофібрилярних, у тому числі актину та міозину [422]. Утворені пептиди системою активного транспорту

переносяться через мембрану всередину клітини, де внутрішньоклітинні пептидази гідролізують їх до амінокислот. Очевидно, що протеолітична активність для промислових штамів також є важливою ознакою. Проте слід зауважити, що оцінювання протеолітичного потенціалу культур доцільніше проводити за ступенем гідролізу протеїнів м'ясної сировини, зокрема міозину, аніж желатину. Як і до будь-якого компонента, який використовується при виробництві м'ясних виробів, до заквасочні культур висуваються певні вимоги. Заквашувальні культури повинні бути, перш за все, безпечними для здоров'я. Вони повинні ефективно діяти в м'ясному субстраті, надаючи виробам яскраво виражений інтенсивний колір, традиційний смак і аромат [66, 376].

В результаті застосування заквасочних культур виробник повинен отримати бажані зміни у výroбах. Крім того, використання штамів не повинно негативно впливати на зберігання готового продукту.

Склад мікробіоти промислових заквашувальних культур різноманітний так само, як асортимент ферментованих м'ясних продуктів і смакові переваги споживачів. Але головними елементами в м'ясі, як правило, завжди залишаються стафілококи і молочнокислі бактерії (лактобактерії, педіококкі).

Введені в výroби молочнокислі бактерії (лактобактерії плантарум, *L.casei* або *L.brevis*) є постачальником протеолітичних ферментів, здатних до трансформації білків м'ясного фаршу. Сахаролітичні ферменти створюють сприятливі умови для роботи ферментів м'язової тканини. Як правило, використовують штами молочнокислих бактерій, здатні продукувати молочну кислоту, леткі жирні кислоти, карбонільні сполуки і амінокислоти [357, 407].

Однією із важливих властивостей молочнокислих мікроорганізмів є їхня здатність перешкоджати окисненню ліпідів м'ясних виробів. У молочнокислих мікроорганізмів у процесі еволюції виробилися спеціалізовані ензимні системи, що захищають клітини прокаріотів від токсичної дії похідних O_2 . Спрямоване використання заквашувальних

культур, що мають антиокиснювальні властивості, дає змогу запобігати псуванню м'ясних продуктів. Для стафілококів та кокурій характерною є наявність комплексу ліпаз із низькою субстратною специфічністю. Розщеплення жирів мікробними ліпазами сприяє накопиченню вільних летких жирних кислот, альдегідів, спиртів, кетонів, оксикислот, які беруть участь у формуванні ароматичного букету [112, 474]. Безперечно, важливе значення у доборі культур для ферментації м'ясної сировини має антагоністична активність стосовно умовнопатогенних та патогенних мікроорганізмів. Показано, що молочнокислі мікроорганізми утворюють речовини, які здатні пригнічувати ріст шкідливої мікробіоти. До цих речовин належать оцтова кислота, діоксид вуглецю, пероксид водню, діацетил, ацетоїн, а також бактеріоцини — низькомолекулярні пептиди, які виявляють антибактеріальну активність щодо близькоспорідненої мікробіоти [66, 257, 363, 418, 452, 469]. У бактеріоцинів є низка переваг над хімічними консервантами харчових продуктів, зокрема: вони нетоксичні для еукаріотичних клітин; інактивуються травними протеазами і не впливають на мікробіоту кишечника; рН- та жаростійкі; мають відносно широкий антибактеріальний спектр проти збудників псування продуктів та патогенних мікроорганізмів. Резистентність до бактеріоцинів, на відміну від антибіотиків, не передається спадково; гени, що кодують ці сполуки, часто локалізовані у плазміді, що полегшує генетичні маніпуляції. Варто зауважити, що здатність до синтезу антибактеріальних сполук, особливо бактеріоцинів, є суто штамовою ознакою. Синтез бактеріоцинів слід розглядати як позитивне явище у виробництві ензиматично оброблених м'ясних продуктів, оскільки це сприяє збільшенню терміну зберігання без застосування штучних консервантів або спеціальних додаткових технологічних операцій. Альтернативу бактеріоциногенним культурам складають штами, які продукують інші антимікробні речовини. Так, наприклад, *Lactobacillus reuteri* виробляють рейутерін — суміш різних форм β -гідроксипропіональдегідів, що має широкий спектр дії на бактерії, гриби та

найпростіші (Protozoa) [434]. *L. plantarum* синтезують низку сполук: 3-гідроксигирні кислоти, антифунгіцидні циклічні пептиди, фенілмолочну кислоту і суміш речовин з низькою молекулярною масою, подібних до молочної кислоти. Більшість з них виявляють активність щодо мікроміцетів, дріжджів, а деякі ще й проти бактерій, у тому числі родів *Listeria* і *Salmonella* [431].

Педіококкі - ві мікроорганізми є гомоферментативними мікроаерофільна організмами, який проявляє високу солестойкість. Їх використовуються для швидкої ферментації, які дозволяють швидко знизити рН і отримати продукт з кислинкою в смаку і стабільного кольору. Також він здатний утворювати ароматичні сполуки - наприклад, діацетил, який істотно впливає на процес смакоутворення.

Дослідниками встановлено, що ферментація м'ясного фаршу інтенсифікується з культурою *Pediosoccus cerevisiae*, яка знижує величину рН за концентрації 10^9 КУО/см³ [349] .

Для додання м'ясопродуктах кольору в складі заквасочних культур повинні бути денітрифікуючі бактерії (це, головним чином, стафілококи і мікрококи), в результаті дії яких продукт набуває характерну для цього виду ковбас стабільну рожево-червоне забарвлення.

Одночасно дана мікробіота знижує кількість залишкового нітриту в готових продуктах. Стафілококи також виробляють фермент (каталазу), який дозволяє стабілізувати якість готового продукту при зберіганні. Участь мікрококков і стафілококів в процесі утворення аромату пов'язано з декількома аспектами:

- протеолітична активність: білки розщеплюються до вільних амінокислот;
- ліполітична активність: утворення вільних жирних кислот, головним чином, низькомолекулярних летких жирних кислот;

Вільні жирні кислоти можуть спонтанно окислюватися до перекисів, які в результаті каталазної активності мікрококков перетворюються в карбоксильні сполуки [349].

Дріжджі і міцеліальні гриби використовуються для створення на поверхні м'ясопродуктів білого бархатистого нальоту і захищають їх від небажаного пліснявіння, а також сприяють утворенню специфічного аромату.

Штам *S. equorum* продукує макроциклічний пептидний антибіотик — мікрококін P1 та інгібує розвиток *L. monocytogenes* у м'яких сирах. Іспанськими дослідниками встановлено антимікробну активність, спрямовану на *L. monocytogenes* і *S. aureus*, у 4 зі 166 штамів стафілококів, виділених із сиров'ялених ковбас [425]. Синтез бактеріоцинів слід розглядати як біологічний консервант у виробництві ферментованих м'ясних продуктів, оскільки це дає змогу збільшити термін їх зберігання без використання штучних консервантів або додаткових технологічних операцій [198, 402, 409]. Останнім часом обговорюються можливості створення пробіотичних м'ясних продуктів, головним чином сиров'ялених, оскільки їх виготовляють без додаткової температурної обробки [66, 304, 419, 461]. Вже кілька років у Німеччині випускають салямі-продукт, а в Японії — м'ясний спред, до складу яких входять культури молочнокислих бактерій інтестинального походження. У Скандинавії проведено дослідження з перевірки пробіотичних властивостей у культур, ізольованих із ензиматично оброблених ковбас, за результатами яких було відібрано два штами, що здатні до адаптації в умовах шлуново-кишкового тракту та інгібування умовно-патогенних і патогенних бактерій (*E. coli*, *S. typhimurium*, *S. flexneri*, *Y. enterocolitica*, *L. monocytogenes*) [390, 172]. В останні роки у виробництві м'ясних виробів увагу багатьох учених привертають біфідобактерії. Використання цих мікроорганізмів не тільки розширює смакову гаму готового продукту, а й підвищує його позитивну дію (як пробіотика) на організм споживача.

До складу препаратів для виробництва ферментованих м'ясних продуктів залучають види біфідобактерій, які характерні для нормальної

мікробіоти людини і тварин, а саме *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. breve*, *B. adolescentis* і *B. animalis*. За первинного виділення всі види біфідобактерій є анаеробами. Однак за лабораторного культивування ці мікроорганізми набувають здатності розвиватись у присутності деякої кількості кисню, а у високоживильних середовищах — і в повністю аеробних умовах. Біфідобактерії під час росту продукують значну кількість кислот, тому кислототолерантність є цінним філогенетичним надбанням для виживання цих груп мікроорганізмів [66, 228]. За даними деяких авторів, різні види біфідобактерій мають здатність продукувати леткі кислоти, альдегіди, (формальдегід, ацетальдегід), бутанон-2, діацетил [370]. Водночас встановлено, що протеолітична активність у молоці більшості штамів біфідобактерій не поступається таким молочнокислим бактеріям, як *L. lactis*. У процесі життєдіяльності біфідобактерій у значній кількості накопичуються і такі амінокислоти, як лізин, аргінін, глютамінова кислота, валін, метіонін, лейцин, тирозин. Є відомості про те, що в молоці, сквашеному біфідобактеріями, частка незамінних амінокислот сягає 40%. Хамагаєва та ін., аналізуючи рецептури розсолів, застосовуваних під час виготовлення м'ясних продуктів, звернули увагу на той факт, що вони є подібними до живильних середовищ для вирощування біфідобактерій [304]. Це свідчить про перспективу застосування цих мікроорганізмів у технологіях виробництва м'ясних продуктів. Біфідобактерії здатні продукувати екзогенні полісахариди. Новик і співавт. показали, що промисловий штам-пробіотик *B. adolescentis* 94-БИМ утворює два види ЕПС — капсульний та вільний екзополімери глікопротеїнової природи [109]. Висока антагоністична активність щодо патогенної та умовно-патогенної мікробіоти, здатність рости в анаеробних умовах, продукувати молочну і леткі жирні кислоти свідчать про перспективність використання біфідобактерій у виробництві ковбас. Здатність біфідобактерій запобігати розвитку багатьох видів патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів має вкрай важливе значення, оскільки дає змогу забезпечити високі санітарні показники готового продукту. Завдяки

високій антагоністичній активності під час ферментації м'яса біфідобактерії мають перевагу в доступі до джерел енергії і живлення, забезпечують необхідний напрям ферментації та санітарно-епідеміологічний стан продукту. Окрім того, метаболітам біфідобактерій притаманні високі редукувальні властивості, які сприяють утворенню та стабілізації забарвлення ковбасних виробів. Останнім часом вивчено й досліджено велику групу бактерій роду *Propionibacterium*. Ці мікроорганізми є obligatними мешканцями рубця і кишечника жуйних тварин. Також їх широко застосовують у виробництві молочних продуктів, особливо сирів ементальської групи. Пропіоновокислі бактерії мають високу ліполітичну активність, яка сприяє утворенню жирних кислот: пропіонової, оцтової, міристинової, пальмітинової, стеаринової та олеїнової. Усі ці кислоти сприяють створенню аромату продукту. Значна солестійкість (до 4,0% NaCl), термостійкість і разом з тим здатність пропіоновокислих бактерій розвиватися за температури 10–14 °C відповідають особливостям технології вироблення ензиматично оброблених м'ясних продуктів. Встановлено, що пропіоновокислі бактерії відзначаються протеолітичною активністю. Вони містять два типи різних протеаз: одні з них асоційовані з клітиною стінкою і діють у експоненціальній фазі росту виключно на β -казеїн, тоді як інші реєструються наприкінці активного росту і характеризуються меншою специфічністю. Останні ензими локалізовані на клітинній мембрані [43]. Окрім того, пропіоновокислі бактерії нагромаджують вільні амінокислоти і леткі жирні кислоти, прискорюючи тим самим формування консистенції смакових характеристик готового продукту. Таким чином, застосування пропіоновокислих бактерій за посолу м'ясної сировини сприяє поліпшенню його якісних показників та інтенсифікації процесу дозрівання загалом. З літератури відомо, що висока антагоністична активність стосовно патогенної та умовно-патогенної мікробіоти, здатність рости за низьких температур, продукувати вільні жирні кислоти, амінокислоти, вітаміни, ензими свідчать

про перспективність використання пропіоновокислих бактерій як заквашувальних культур для м'ясопродуктів. Окрім того, проміжні метаболіти мають високі редукувальні властивості, сприяють утворенню і стабілізації забарвлення ковбасних виробів. Пропіоновокислі бактерії синтезують значну кількість жирних кислот, ліпідів і фосфоліпідів, склад яких є таксономічною ознакою. *P. shermanii* синтезують також C12-, C21-, C22-, C23-жирні кислоти. Вони характеризуються вираженою каталазною, пероксидазною і супероксидазною активністю і є продуцентами вітаміну B12 [66, 125, 126, 158, 391,]. Заиграевой та ін. досліджено вплив різних температурних режимів посолу м'яса на активність пропіоновокислих бактерій [127, 128]. Авторами було вивчено їхню стійкість до хлориду та нітриту натрію, яка показала здатність до розвитку цих бактерій у гідролізованому молоці з масовою часткою кухонної солі до 5% та до 5 мг% нітриту за температури 2–4 °С. Через 24 год культивування кількість життєздатних клітин досягала 10^8 КУО в 1 см³. Вивчаючи вплив ступеня подрібнення сировини на розвиток цих бактерій, встановили, що найактивніше вони розвиваються у сировині зі ступенем подрібнення 2–3 мм. За 6 год ферментації кількість життєздатних клітин становила 10^6 – 10^7 КУО в 1 см³, тимчасом як у м'ясі, посоленому у вигляді шроту, таку саму кількість клітин пропіоновокислих бактерій спостерігали через 12 год [336, 446]. Отже, пропіоновокислі бактерії мають високий промисловий потенціал (здатні розвиватися за низьких температур, нагромаджувати ароматичні сполуки, продукувати антимуtagenні речовини, амінокислоти, володіють антагоністичною активністю до патогенної та умовно-патогенної мікробіоти, є низькими кислотоутворювачами) і тому їх доцільно використовувати у виробництві м'ясних виробів. Проте слід зазначити, що вплив пропіоновокислих бактерій на м'ясну сировину в процесі виробництва ензиматично оброблених м'ясних виробів наразі вивчено недостатньо і це потребує системних теоретичних досліджень та обґрунтування їх практичного застосування.

Загалом, у різноманітних ензиматично оброблених м'ясних продуктах найчастіше спостерігали такі види мікроорганізмів, як *L. sake*, *L. curvatus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. pentosus*, *L. yamanachiensis*, *L. ha va ri cus*, *L. alimentarius*, *L. mesenteroides*, *Leu. viri des cens*, *L. brevis*, *L. farciminis*, *L. diver gens*, *L. carnis*, *S. lactis*, *L. leichmanii*, *E. fae calis*, *E. faecium*, *P. pentosaceus*, *P. acidilactici*, *M. varians*, *M. kristinae*, *M. luteus*, *M. caseolyticus*, *M. candidus*, *M. auriantiacus*, *S. saprophyticus*, *S. xylosus*, *S. carnosus*, *S. simulans*, *S. warneri*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. equorum*, *S. succinus*, *S. lentus*, *S. vitulus*, *S. pasteuri*, *P. shermanii*, *B. bifidum*, *B. lactis*, *B. adolescentis*, *B. longum* [66, 258, 324, 428].

1.5 Бактеріальні препарати для інтенсифікації ферментування м'ясної сировини

Бактеріальні препарати для підприємств м'ясної промисловості України поставляють спеціалізовані підприємства Німеччини, Данії, Австрії, США, Франції, Іспанії та інші.

У виробництві ензиматично оброблених м'ясних продуктів застосовують різні форми бактеріальних препаратів. Їх випускають у рідкому, замороженому та ліофілізованому стані: закваски (вміст життєздатних бактерій становить 10^8 КУО/г) або бактеріальні концентрати (вміст життєздатних бактерій — 10^9 – 10^{11} КУО/г) [138].

Спеціалістами Всеросійського науково-дослідного інституту м'ясної промисловості налагоджено випуск низки сублімованих бактеріальних препаратів для м'ясної промисловості: АЦИД-СК-1, АЦИДСК-2 (*L. acidophilus*), БП-СК (*L. plantarum*, *M. caseolyticus*) тощо [207, 304]. Концентрація життєздатних клітин у цих препаратах — не менше $1,0 \cdot 10^9$ КУО/г, рекомендована доза внесення на 1 кг ковбасного фаршу — 2,5 г АЦИД-СК або 0,5 г БП-СК. Препарати можуть бути внесені у фарш безпосередньо в сухому вигляді або після реактивації. До складу заквашувального препарату ПБ-МП входять штами молочнокислих бактерій

(*L. casei*, *L. plantarum*) та мікрокока *M. varians*, їх вміст, відповідно, — $2,0 \cdot 10^{10}$ та $1,0 \cdot 10^9$ КУО/г; перед внесенням він також потребує 2-годинної реактивації. Сухий бактеріальний препарат ПБК БР — це комплекс ліофілізованих культур *L. plantarum*, *L. casei*, *M. varians*, *Paracoccus denitrificans* [251]. На базі Московського державного університету прикладної біотехнології (Росія) розроблено й запроваджуються до застосування нові бактеріальні препарати функціонального спрямування: «Биоцвет» (*Staphylococcus carnosus* LIA-96), «Дебарс плюс» (*L. curvatus*, *L. plantarum*, *S. carnosus*, *Debaryomyces hansenii* Dhi, *Penicillium camembertii*), «Аромалакт» (*L. plantarum*, *S. carnosus*, *Pediococcus acidilactici*), «Лактомикс» (*L. curvatus*, *L. casei*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus*), «Биосейф» (*L. sakei*, *L. plantarum*, *S. xylosus*, *P. pentosaceus*) [67, 411].

Використання молочнокислих симбіотичних продуктів на етапі дозрівання м'ясної сировини дозволяє збагатити м'язову тканину білком молочного згустку, метаболітами мікроорганізмів, що дозволяє виробляти фізіологічно цінні м'ясопродукти, що мають високі споживчі властивості. Апробація пробіотичних продуктів, що містять живі клітини ацидофільних і біфідобактерій – Наріне форте, Біфішка і Кефінар [213, 300, 420, 457], показали вплив пробіотичних культур на вміст макро- і мікронутрентів в готових виробках. В процесі метаболічних процесів консорціуму мікроорганізмів відбувається накопичення високоцінного, збалансованого за амінокислотним складом білка, який при дозріванні і посолі рівномірно розподіляється в м'язовій тканині сировини.

У роботі Фабіянської Л.В. [300] показано, що створені препарати Лактоплан 13, 130, 1005, Лактоферм 25 і Лактокур 904 дозволяють скоротити технологічний процес виготовлення сиркопчених ковбас і гарантують отримання якісних виробів.

Рядом авторів доведено унікальні властивості екзополісахариду - кефірана, синтезованого кефірний грибками і молочнокислими бактеріями, досліджені інгібуюча здатність кефірана по відношенню до патогенних

мікроорганізмів, його антиоксидантні і імуномодуючі властивості. Крім того, встановлено, що полісахарид є вологоутримуючим агентом і покращує реологічні властивості продуктів [4]. Мікроорганізми, що входять до складу Кефінара, характеризуються необхідними в м'ясопереробному виробництві технологічними властивостями: мають високу солестійкість; здатні рости і розвиватися при низьких температурах; мають кислото- і ароматобразуючих здатністю; вираженою протеолітичною активністю. Висока кислотоустойчивість бактеріальних культур біопродукту.

Вчені Туреччини, Греції, Данії, Німеччині, Китаю, Італії досліджували виготовлення сиркопчених ковбас із використанням бактеріальних стартових культур, внесення яких значно підвищувало вологозв'язуючу і емульгуючу здатність м'ясного фаршу, покращувало якість і стабільність готового продукту [242].

Кефінар - важлива технологічна властивість, завдяки якій мікроорганізми тривалий час залишаються життєздатними в розсолі при дозріванні м'ясної сировини, накопичують біомасу і конкурують з патогенною мікробіотою, підвищуючи санітарно-гігієнічних показники виробництва [4].

Поширеними в Німеччині є бактеріальні препарати Vactoferment, Duploferment H, Pokelferment 77, до складу яких входять денітрифікуючі мікрококи і мікроорганізми, які продукують молочну кислоту, які, в свою чергу, покращують освіту і стабілізацію кольору, знижують вміст нітриту, покращують якість і скорочують процес виготовлення ковбас [4].

У багатьох зарубіжних країнах в стартових культурах використовують мікрококи. Сиркопчені ковбаси з великим вмістом мікрококков володіють найтоншим запахом, ніжним і навіть пікантним кислуватим смаковим відтінком, що вважається критерієм високої якості багатьох сиркопчених ковбас. Участь мікрококков в процесі освіти аромату дослідники пов'язують з високою біохімічною активністю цих мікроорганізмів [199, 200, 259, 242].

Компанія «CHR / Hansens Laboratorium» (Данія) розробила два нових бактеріальних препарату. Культури молочнокислих бактерій Flora-Garn L-5 і L-6 забезпечують дозрівання при 15 ° С, замість звичайних 20-25 ° С у виробництві ферментуючих ковбас. Культура Flora-Garn L-2 продовжує термін зберігання м'яса у вакуумній упаковці, пригнічуючи зростання газообразуючих бактерій [331].

На ринку України асортимент заквашувальних препаратів для ферментації м'яса доволі обмежений і представлений переважно імпортованими препаратами. «Могунція» — одна з небагатьох фірм, що виробляють бактеріальні культури. Останнім часом цією фірмою розроблено серію нових культур «ПротектСтарт» з високою захисною дією проти сальмонел і лістерій. Їхня ефективність настільки висока, що перевершує всі відомі бар'єрні технології [7, 251]. Поряд із препаратами фірми «Могунція» пропонуються бактеріальні культури під логотипом «Vactoferm™» («Бактоферм»). Культури «Бактоферм» — це комбінації штамів молочнокислих бактерій і стафілококів, створених для застосування у виробництві сирокочених і сиров'ялених м'ясних продуктів. Асортимент культур такий:

- культури для виробництва ензиматично оброблених ковбас;
- культури для традиційної ферментації;
- культури для прискореної ферментації;
- культури американського стилю (суперприскорена ферментація);
- культури для суцільном'язових виробів;
- спеціальні бактеріальні культури;
- одноштамові культури, які поліпшують колір і смак готового продукту;
- культури на основі плісені;
- захисні культури з потрійною дією (пригнічення *L. monocytogenes* на 99% та сальмонел; швидке зниження рН) [443].

Нещодавно в науково-дослідному центрі фірми "Могунція" була розроблена інноваційна серія стартових культур. Основу цієї системи складають спеціально розроблені стартові культури арт. 8929 ПротектСтарт - комбінація стартових культур (мікроорганізми виду *Leuconostoc citreum* і *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus carnosus*) для контрольованого прискореного процесу дозрівання сиркопчених і сиров'ялених ковбас. Як відомо, мікробіологічна забрудненість м'яса птиці більше ніж у інших видів м'яса (свинина, яловичина і ін.). А дані культури являють собою захисний бар'єр, що перевершує всі відомі бар'єрні технології. При цьому вони додатково створюють м'яку ферментацію і сприяють оптимізації водневого показника. Завдяки забезпеченню чудового кольору можна в багатьох випадках відмовитися від додаткового застосування барвників. Разом зі стартовими культурами поставляються відповідні до них препарати для дозрівання серії «Бессавіт Протект». Спеціально підібраний препарат для дозрівання може гарантувати повну ефективність. У зв'язку з цим доцільно використовувати Протектстарт при виробництві сиркопчених та сиров'ялених ковбас з використанням м'яса птиці [252].

Стартові культури арт.8920 «Бессастарт» з дозуванням 60 г на 100 кг фаршу і низькою собівартістю, які добре себе зарекомендували і користуються стабільним попитом у російських виробників. До їх складу входять *Staphylococcus xylosys* і *Lactobacillus plantarum*.

«Бессастарт 20/100» і «Бессастарт» - це універсальні культури для всіх типів сиркопчених ковбас, які вимагають помірної кислотності і стабільної ферментації. Вони можуть використовуватися при виробленні традиційних сиркопчених ковбас типу Брауншвейгская, Московська, Сервелат, Столичная, свиняча і ін. При виробленні даного асортименту закладка натуральних спецій і цукру може залишатися, але ми рекомендуємо використовувати в цьому випадку додатково суміш цукрів, а також стабілізатор кольору

На вітчизняному ринку реалізуються також культури під торговою маркою АіВі. Це переважно захисні культури. Принцип дії захисного механізму кожної з цих культур забезпечується антагоністичною активністю композиції стафілококів і молочнокислих бактерій. Сьогодні їх розглядають як найбільш адаптований комплекс мікроорганізмів для біологічного консервування ковбасних виробів [463]. Компанія Van Hees (Німеччина) виробляє сублімовані препарати для ензиматично оброблених цільном'язових виробів та ковбас: РО Пекель Стар (*S. carnosus*, *L. pentosus*, лактоза), Прималь СК Софт 50 (*S. carnosus*, глюкоза), Прималь СК Натур Репид 50 (*S. carnosus*, *L. curvatus*, декстроза); концентрація мікроорганізмів становить $3\text{--}8 \cdot 10^{11}$ КУО/г, рекомендована доза внесення — 0,5 г на 1 кг м'ясної сировини [367, 466]. Болгарська компанія Genesis Laboratories пропонує ліофілізовані препарати трьох серій: В (*P. pentosaceus*, *S. xylosus*, *K. varians*), С (*P. cerevisiae*, *S. carnosus*, *K. varians*), D (*P. pentosaceus*, *S. carnosus*); застосування їх у виробництві сирокочених ковбас скорочує технологічний процес до 10–14 діб [161]. У нашій країні роботи зі створення вітчизняних препаратів проводять фахівці Інституту продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук — ІПР НААН (попередня назва — Технологічний інститут молока та м'яса НААН) упродовж останніх 20 років. Першим препаратом була бактеріальна закваска для виробництва ензиматично оброблених м'ясних продуктів — ДНМ-1 (композиція молочнокислих та оцтовокислих бактерій), згодом створено досконаліші бактеріальні концентрати ЛАК-1 (*L. casei*, *L. plantarum*, *L. lactis*, *Acetobacter aceti*) та ЛАК-2 (*L. casei*, *L. plantarum*, *L. lactis*, *M. halobius*) [161]. Нещодавно було розроблено нові бактеріальні препарати прямого внесення для виготовлення ензиматично оброблених м'ясних виробів з різних типів сировини, зокрема:

— препарат «Лакмік» — для виготовлення сирокочених і сиров'ялених ковбас;

– препарат «МКС» — для ферментації суцільном'язової свинини і яловичини. Ці препарати вирізняються оригінальністю композиції мікробіоти й адаптовані до розвитку в сировині різного типу [35]. Застосування препарату «МКС» сприяє скороченню строків визрівання сиров'ялених цільном'язових продуктів на 3–4 доби, забезпечує формування традиційних органолептичних характеристик, гарантує низький вміст залишкових нітритів [210]. Штами зазначених вище композицій продукують низку метаболітів, здатних пригнічувати розвиток небажаної мікробіоти (молочну кислоту, аміак, леткі кислоти, ефіри, спирт, ацетон, діацетил) і специфічні антибактеріальні речовини — бактеріоцини. Завдяки цим сполукам пригнічується розвиток бактерій родів *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Proteus* та ін. Ці культури уможливають значне підвищення санітарно-епідеміологічної безпеки м'ясної продукції. Під впливом заквашувальної мікробіоти формуються основні технологічні показники готових продуктів (консистенція, смако-ароматичний букет, забарвлення тощо), утворюються пептиди, вільні амінокислоти, органічні кислоти, карбонільні сполуки, що підвищують біологічну цінність готового продукту. Мікроорганізми, що входять до складу цих препаратів, забезпечують стабільність і бажаний напрям ферментації м'ясної сировини, зниження концентрації внесених нітритів і формування характерного кольору, а також запобігають розвитку сторонньої мікробіоти. За рахунок інтенсифікації виробничого процесу і скорочення часу ферментації підвищується безпека виробництва, зменшується виробничий брак. Усе це сприяє виробництву стандартизованого високоякісного продукту. Отже, основними критеріями відбору мікробіоти до складу бактеріальних культур для виробництва м'ясопродуктів є безпечність і популяційна стабільність культур, рівень кислотоутворення, здатність до розвитку у м'ясній сировині й широкому діапазоні температури, солестійкість та конкурентоздатність стосовно спонтанної, зокрема патогенної, мікробіоти м'яса [66, 67, 208].

Таким чином, за результатами аналізу літератури встановлено, що актуальним є вивчення ефективності нових штамів мікроорганізмів, їх комбінацій, оптимізація схем їх згодовування тваринам, які забезпечували б терапевтичний ефект. У зв'язку з дефіцитом наукових даних з вивчення ефективності використання пробіотиків нового покоління в годівлі ВРХ, свиней та птиці необхідно здійснити дослідження, які б інтенсифікували підвищення рівня проникнення біотехнології у виробництво високоякісної м'ясної сировини.

Не існує чітких критеріїв вилучення штамів, що є перспективними для ферментування м'ясної сировини, а також тих, що відповідають вимогам до пробіотиків. Асортимент пробіотиків та пробіотичних кормових продуктів для сільськогосподарських тварин, особливо в Україні, доволі обмежений. В той же час, враховуючи високий рівень шлунково-кишкових захворювань тварин, особливо в ранній період життя, актуальність пошуку нових пробіотиків не послаблюється.

Практично відсутні дані про мікробіоту ферментованих м'ясних продуктів, які виготовляють в Україні. Мало свідчень щодо характеристик промислових штамів та їхніх композицій, які функціонують в м'ясній сировині.

Все це дозволяє визначити пріоритетні питання, які, на наш погляд необхідно вирішувати першочергово:

- провести пошук штамів, які відповідають вимогам до пробіотиків, дослідження їхніх біологічних властивостей;
- розробка інноваційних функціональних добавок зі стабільними біотехнологічними властивостями;
- визначення режимів культивування багатокомпонентних композицій для нагромадження максимальної кількості біомаси;
- опрацювання умов стабілізації бактеріальних суспензій для забезпечення максимального виживання і збереження метаболічної активності культур;

- вивчення біологічних властивостей штамів бактерій здатних до функціонування у м'ясній сировині.

РОЗДІЛ 2

ОРГАНІЗАЦІЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Вибір напрямку та методики досліджень

Дослідження проводились у відділі біотехнології Інституту продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук. Апробацію технологій бактеріальних препаратів та пробіотиків для ферментації м'ясної сировини та функціональних добавок для сільськогосподарських тварин здійснювали в умовах Державного дослідного підприємства. Активність функціональних добавок було апробовано у господарствах, а саме: БК-Пт - на НВП «УКРВАК», Київська обл., Броварський р-н; БК-П - ДП «ДГ «Степне» Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН, Полтавська обл. та свинокомплекси «Мар'янівський», с. Мар'янівка, Лисянського р-ну Черкаської обл.; БК –Т -ФГ «Вітас іК», Полтавська обл.

Проведено лабораторні виробки ферментованих м'ясних виробів зі співробітниками відділу технології м'ясних продуктів к.т.н. Л.У. Войцехівською та у промислових умовах на м'ясокомбінатах України.

Експериментальні дослідження з тваринами проведено у відповідності до положень «Загальноетичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.), міжнародних принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 18.03.1986 р.), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447-ІУ від 21.02.2006 р.

Експериментальна частина роботи виконана

Проведено дослід з встановлення раціональної дози функціональної добавки БК-Пт та проведено виробничу перевірку на ФГ «Березняки» Київська обл., Баришівський р-н у 2013 р.

Для встановлення раціональної дози функціональної добавки БК-Пт було сформовано 4 групи з добових курчат-бройлерів кросу " Кобб-500 » по 50 голів у кожній групі, подібних за живою масою і клініко-фізіологічним станом.

Основні умови утримання курчат були однакові для обох груп. Схема дослідів представлено в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Схема дослідів на птиці

<i>Групи</i>	<i>Особливості годівлі</i>
1 контрольна	Основний раціон без функціональної добавки
2 дослідна	Основний раціон + 0,5 г функціональної добавки на 1 кг комбікорму
3 дослідна	Основний раціон + 1 г функціональної добавки на 1 кг комбікорму
4 дослідна	Основний раціон + 2 г функціональної добавки на 1 кг комбікорму

Курчат- бройлерів вирощували до 38 - денного віку на підстилці.

Функціональну добавку курчатам-бройлерам застосовували за наступною схемою: Перша група була контрольною - не додавали. Курчатам 2 дослідної груп давали 0,5 г функціональної добавки на 1 кг комбікорму (дослід 2); 3 дослідній групі давали 1 г функціональної добавки на 1 кг комбікорму (дослід 3); 4 дослідній групі давали 2 г функціональної добавки на 1 кг комбікорму (дослід 4).

Функціональну добавку додавали до складу комбікорму на підприємстві змішуючи вручну безпосередньо перед годуванням птиці

трьома курсами, а саме: 1—5 діб, з 21—25 та 31—38 добу. Вся птиця піддавалася ветеринарно-профілактичним заходам у відповідності зі схемою, прийнятої на птахофабриці.

На базі Свинокомплекс «Мар'янівський», с. Мар'янівка, Лисянського р-ну. Черкаської обл. було проведено комплексний науково-господарський дослід на поросятах.

В період з 10 лютого по 12 березня 2013 року були проведені клінічні дослідження лікувальної та профілактичної ефективності функціональної добавки БК-П на поголів'ї свиней в умовах виробництва за нижче вказаною схемою.

Для досліду було сформовано чотири групи (по 80 голів кожної) свиней породи велика біла та ландрас.

Функціональну добавку задавали поросятam по групах:

- 1 група (1-35 денні поросята) – шляхом випоювання з розрахунку 0,2 г на 1 кг маси тіла, один раз на добу, протягом 3 днів;
- 2 група (1-35 денні поросята) – контрольна (без функціональної добавки);
- 3 група (35-60 денні поросята) – задавали препарат, змішаний з кормом, з розрахунку 2 г на 10 кг маси тіла протягом 5 днів;
- 4 група (35-60 денні поросята) – контрольна (без функціональної добавки).

Тварини 1-2 груп знаходились біля свиноматок гніздами по 10 голів, в станках, попередньо очищених, продезінфікованих та побілених вапном. Маса плодів при народженні становила 0,9-1,0 кг. Поросята 3 та 4 груп знаходились у групових станках по 30 голів.

Роздача препарату проводилася вручну. Препарат ретельно перемішували з молоком (до віку 30 днів) або водою (після віку 30 днів) після чого використовувався для збагачення основного раціону.

На ФГ «Вітас іК», Полтавська обл., з метою профілактики шлунково-кишкових захворювань новонародженим телятам задавали по:

- 1 група (24 теляти) – випоюванням функціональною добавкою БК-Т з розрахунку 100-150 см³ після першого випоювання молозива;
- 2 група (18 телят) - випоюванням функціональною добавкою «Симбілакт-М» з розрахунку 100-150 см³ після першого випоювання молозива;
- 3 група (10 телят) – контрольна, без функціональної добавки.

Токсичність функціональної добавки БК-Т (ВФ, ТОВ «Базальт», м. Бровари, Київська обл.) досліджували на білих щурах 3-4-місячного віку, масою тіла 170-180 г.

З лабораторних тварин було сформовано дослідні та контрольні групи по 6 голів у кожній за принципом аналогів, що містили в стандартних клітках, годували повноцінним раціоном. Перед початком дослідів тварин витримували в карантині не менше 7 днів, ведучи за ними щоденні спостереження, слабких виключали як з дослідних, так з контрольної групи.

Було сформовано 3 однакові за кількістю та масою групи, по 6 тварин кожна. Вводили добавку у дозах: тваринам I групи – 0,1 см³, II групи – 0,5 см³, III група тварин була контрольною, їм вводили дистильовану воду.

2.2. Об'єкти досліджень

Об'єктами досліджень були нововиділені культури молочнокислих, та біфідобактерій, біологічний матеріал, композиції мікроорганізмів, функціональні добавки, поживні та захисні середовища, бактеріальні препарати та ферментовані м'ясні продукти.

Кокцидіостатики:

- диклазурил 1,5 мг/см³, 0,75 мг/см³, 1,0 мг/см³;
- саліноміцин 90 мг / см³, 60 мг/см³, 45 мг/см³, 30 мг/см³;
- наририн 90 мг / см³, 60 мг/см³, 45 мг/см³, 30 мг/см³;
- нікарбазін 100 мг/см³, 50 мг/см³, 25 мг/см³, 12,5 мг/см³

Премікси ФІЗ та Три-соль:

- Премікс ФІЗ – це суміш полі- та олігофруктозанів, сарсапоніну (екстракту з юки *Schidigera sarsaponins*) та мінерального наповнювача.

Премікс Три-Соль – Розчинний мультивітамінний комплекс з незамінними амінокислотами і електролітами для підвищення імунітету, при відновленні після хвороби, проти стресу для всіх видів тварин, птиці, курчат, телят, ягнят, поросят.

Основний склад преміксу Три-Соль наведено в таблиці 2.2

Таблица 2.2

Склад преміксу Три-сол

Назва компоненту	Од.вим.	Кількість	Назва компоненту	Од.вим.	Кількість
Вітамін А	МЕ	10000000	Пантотенова к-та	мг	6000
Вітамін D3	МЕ	2000000	Фоліева кислота	мг	250
Вітамін Е	МЕ	1500	Калій	мг	46000
Вітамін К3	мг	4500	Натрій	мг	40000
Вітамін В1	мг	1000	Магній	мг	1150
Вітамін В2	мг	4000	Мідь	мг	3100
Вітамін В6	мг	2300	Цинк	мг	2500
Вітамін В12	мкг	11000	Марганець	мг	3950
Вітамін С	мг	1500	Метіонін	мг	10000
Нікотинова кислота	мг	17500	Лізин	мг	15000

2.3. Методика проведення дослідів

2.3.1. Мікробіологічні методи.

Методи одержання чистих культур із ферментованих м'ясних продуктів.

Досліджували мікробіоту таких груп ферментованих м'ясних продуктів непромислового виробництва: цільном'язеві із свинини (сирокопчені та сиров'ялені балики) та з телятини (сиров'ялена бастурма), ковбасні (сирокопчена ковбаса із свинини).

Чисті культури мікроорганізмів одержували за загальними мікробіологічними методами на відповідних селективних середовищах. Для одержання ізольованих колоній кокової форми накопичувальну культуру висівали на агаризовані селективні середовища – м'ясопептонний агар (МПА) та МПА з 5% NaCl (МПА-С). Для одержання паличкоподібних форм – використовували такі поживні середовища: на основі гідролізованого протеазою знежиреного молока (ГА), середовище de Man, Rogosa and Sharpe (MRS), середовище з дріжджовим екстрактом та глюкозою (ПК) [182, 278, 375].

Виділення та ідентифікацію культур стафілококів здійснювали загальноприйнятим методом [355].

Мікроскопічні препарати готували за загальновизнаною методикою та фарбували метиленовим синім відповідно до ДСТУ 7357:2013 [119] (Додаток Г6).

Аналіз мікроскопічних препаратів здійснювали за допомогою мікроскопу Motic (Fischer Bioblock) з вмонтованою відеокамерою TopView 1000 зі збільшенням 1000 разів.

За наявності в мікропрепаратах сторонніх мікроорганізмів або значної морфологічної гетерогенності процес очищення повторювали шляхом послідовних висівів у рідкі та агаризовані селективні середовища [375].

Ідентифікація та селекційні дослідження штамів проводились відповідно до “Bergey's Manual of Determinative Bacteriology” [182], за рекомендаціями Л.І.Банікової [15].

Визначення мікробіологічних показників зразків м'ясних виробів проводили за методикою бактеріологічного аналізу відповідно до ДСТУ 8381:2015 [107] (Додаток Г4).

Стандарт поширюється на ковбасні вироби, продукти з м'яса (зі свинини, яловичини, баранини, з м'яса інших видів забійної худоби і птиці) і встановлює методи бактеріологічного аналізу: визначення загальної кількості мікроорганізмів; визначення бактерій групи кишкових паличок; визначення бактерій роду сальмонел; визначення бактерій групи протея; визначення коагулазопозитивних стафілококів; визначення сульфїтвосстановлюючих клостридій [107].

Загальну кількість молочнокислих бактерій визначали стандартним методом висіву згідно з ДСТУ 7999:2015, біфідобактерій – за ДСТУ 7355 [120] (Додаток Г5).

Поряд з зазначеними методиками проводили визначення ферментативних і біохімічних властивостей з використанням комерційних стандартизованих систем:

Тестування з використанням STAPHYtest 16 здійснювали відповідно до інструкції фірми-виробника. Після 24 год інкубування за температури 37°C проводили облік результатів: зміна кольору середовища свідчила про ферментацію відповідного субстрату (рис. 2.1).



Рис. 2.1. Тест-панель STAPHYtest 16

Тест-система API 20 А (BioMerieux, Франція) включає 8 загальноприйнятих і 12 асиміляційних тестів для ідентифікації анаеробів. Стріпи API 20 А склалися з 20 мікролунок, що містили дегідровані субстрати. За умови внесення в лунки бактеріальної суспензії анаеробної культури в процесі інкубації відбувається нагромадження продуктів метаболізму, що зумовлювало зміну забарвлення середовища. Облік

результатів здійснювали відповідно до таблиці обліку результатів. На підставі отриманих даних виконували ідентифікацію за допомогою списку профілів API 20 A.

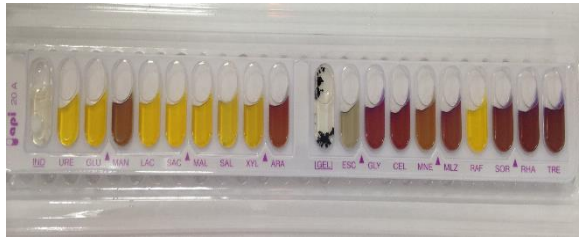


Рис. 2.2. Тест-панель API 20 A

Тест-система API 50 CHL (BioMérieux, Франція), включає 49 тестів з вивчення метаболізму вуглеводів *Lactobacillus*. За результатами формується біохімічний профіль, який вноситься до програмного забезпечення для ідентифікації мікроорганізмів.



Рис. 2,3-Тест-панель API 50 CHL

Культури лактобактерій бактерій підтримували у стерильному молоці або МРС, поновлюючи їх через кожні 20-25 днів за оптимальних для кожного виду температури росту. Зберігали за температури (6-8) °С. Біфідобактерії підтримували на середовищі Блаурокк або ГМ, Культури стафілококів та мікрококів підтримували на МПА Перед дослідями культури активізували шляхом декількох послідовних пересівів на відповідні поживні середовища

(МПА, МПБ, MRS), з інкубацією за оптимальних температур упродовж (20-24) год.

Загальну кількість молочнокислих бактерій визначали стандартним методом висіву згідно з ДСТУ 7999:2015, біфідобактерій – за ДСТУ [120];

2.3.2. Методи дослідження біологічних властивостей окремих штамів бактерій та їхніх композицій.

Вид виділених штамів *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, та *Lactobacillus* визначали за такими критеріями: здатністю до розрідження желатину, гідролізу крохмалю, відновлення нітратів до нітритів, каталазною активністю, утворення аміаку з аргініну, за ростом на цитратному агарі Сімонса, стійкістю до дії NaCl, жовчі, фенолу, високих та низьких значень рН, здатністю до зброджування вуглеводів, до кислотоутворення, до ароматоутворення, до утворення CO₂ із глюкози, цитратів згідно з [215, 397].

Чутливість до фуразолідону. Ріст на цьому середовищі свідчить про належність до мікрококів, оскільки фуразолідон являє собою антимікробний та антисептичний засіб, який пригнічує ріст стафілококів, стрептококів, ентерококів, дизентерійної, кишкової паличок, паличок паратифу, протею та інших мікроорганізмів

Тест з еритроміцином. Стафілококи змінюють забарвлення поживного середовища у жовтий колір. Відсутність зміни кольору свідчить, що штами належать до роду *Micrococcus*.

Фосфомоноестераза Тест на виявлення фосфомоноестерази, який визначається у кокових ізолятах за якісною реакцією на МПА з фенолфталейнфосфатом натрію. Колір колоній стафілококів після обробки парами аміаку набуває рожевого забарвлення, тоді як пігмент мікрококів залишається без змін.

Фосфатазна активність встановлюється за якісною реакцією на середовищі з фенолфталейнофосфатом натрію [277];

Фізіолого-біохімічні властивості, а саме ріст за анаеробних умов, утворення газу з глюкози, рухливість, ріст за різних температурних режимів (10, 15, 20, 30, 37, 40, 45 °C), у межах (3,0-9,2) од. рН; ріст на МПБ і з вмістом хлориду натрію (4-15) %, використання вуглеводу як єдиного джерела живлення (арабінози, галактози, глюкози, ксилози, лактози, мальтози, манітолу, маннози, меліцитози, рафінози, рибози, сахарози, трегалози, фруктози, целобіози), здатність до розрідження желатину, наявність каталази, лецитінази, термостабільної ДНКазы тощо вивчали за методами, описаними Ф. Герхардом [57, 215].

За допомогою діагностичної експрес-системи «Діастаф» [276] підтверджували чистоту культури стафілококів, і у разі потреби розділяли змішані культури.

Визначення лецитиназної активності проводили висів на жовточно-сольовому агарі з інкубацією за 37°C протягом 18-20 год. За позитивного результату навколо колоній стафілококів утворювався райдужний віночок, що обумовлено виділенням ферменту лецитинази і розкладанням лецитину, що знаходиться в середовищі.

Коагулююцію плазми вивчали з використанням сухої цитатної кролячій плазми шляхом внесення агарної культури петлею в стерильну пробірку з 0,5 см³ плазми, розведеною стерильним фізіологічним розчином 1: 5 [182]. За позитивний і негативний контроль брали реакцію з типовими колекційними штамами *S. aureus* ГІСК 049065 та *Kocuria varians* ATCC 9341 відповідно.

Протеолітичну активність культур визначали на МПА з 5 % NaCl з додаванням 10 % гідролізованого молока. З добової культури готували бактеріальну суспензію у фізіологічному розчині з густиною 0,5 за стандартом Макфарланда ($1,5 \times 10^8$ КУО/см³), в яку вносили на 3-5 хв стерильні диски з фільтрувального паперу (діаметром 6 мм). Диски з різними культурами розкладали на поверхню середовища (4-6 на одну чашку). Після інкубації упродовж 72 год за температури 30 °C проводили оцінювання протеолітичної активності за наявністю зони просвітлення навколо диску,

площу якої обчислювали у мм² за формулою $S = \pi (R^2 - r^2)$, де R – радіус зони просвітлення, r – радіус колонії [182].

Антибіотикорезистентність визначали диско-дифузійним методом. з використанням референтного штаму *S. aureus* ATCC 25923 [355]

Визначення відношення до антибіотиків досліджуваних штамів проводили з використанням агарізованого середовища Мюллера-Хінтона. З добової культури готували бактеріальну суспензію у фізіологічному розчині з густиною 0,5 за стандартом Макфарланда ($1,5 \times 10^8$ КУО/см³). 0,5 мл отриманої суспензії засівали газоном на поверхню середовища й за допомогою стерильного пінцету розкладали диски з антибіотиками (до 7 дисків на чашку Петрі). Чашки інкубували протягом 24 год за температури 37°C. Штами відносили до чутливих, помірно стійких або стійких за критеріями, визначеними у МУК 4.2.1890-04 [355].

Вивчення ДНК-азної активності проводили на DNase Test Agar (Іспанія), відповідно до інструкції виробника [306].

Тест Фогеса — Проскауера культури вирощували на середовищі Кларка 1-3 доби за 37 ° С. Потім 1 см³ культуральної рідини переносили в пробірку і додавали 0,6 см³ α - нафтола (5% -ний, розчин в абсолютному спирті) і 0,2 см³ 40% КОН, збовтували. За позитивної реакції через 2-5 хв спостерігали рожеве забарвлення. У штамів, що дають сильну реакцію, забарвлення стає інтенсивним і через 30 хв, а через 1 годину утворює малинове забарвлення. За негативної реакції рожевого забарвлення не спостерігається, і розчин стає коліру міді.

Гідроліз крохмалю спостерігали на картопляному агарі. Чашки Петрі з засіяних картопляним агаром через 24-48 год заливали розчином Люголя. Світлі зони навколо колонії свідчили про гідролізі крохмалю.

Каталазну активність визначали за інтенсивністю забарвлення стійкого комплексу перекису водню з солями молібдену; вимірювання проводили для суспензії бактеріальних клітин у фізіологічному розчині (10^9 кл в 1 см³).

Нітритредуквальну активність культур оцінки інтенсивності забарвлення, яке утворювалось за взаємодії нітриту з сульфаніламідом та N-(1-нафтил)-етилендіамін-дігідрохлоридом у безбілковому фільтраті [247];

Вміст глюкози у середовищі – за інтенсивністю кольорової реакції з антроном [124];

Вміст молочної кислоти – за інтенсивністю кольорової реакції з вератролом [267].

Визначення ліполітичної активності проводили за колориметричним методом, використовуючи хромогенний субстрат п-нітрофенілпальмітат та безклітинну культуральну рідину. Інтенсивність забарвлення зразків визначали за довжини хвилі $\lambda = 410$ нм [8]. Для відділення кисломолочного згустку та біомаси мікроорганізмів від сироватки використовували центрифугування за 8 тис хв^{-1} протягом 15 хвилин. За контроль брали ліполітичну активність сироватки молока підкисленого до 5,5 молочною кислотою.

Величину ліполітичної активності визначали за формулою:

$$LA = \frac{\partial E \cdot V}{b \cdot \varepsilon \cdot v} \quad (2.1),$$

де ∂E - зміна величини екстинції за хвилину;

V – загальний об'єм реакційної суміші, мл;

ε - коефіцієнт екстинції, дорівнює $15 \cdot 10^3$ нМоль;

d – ширина кювети, 0,5 см;

v - об'єм проби, 0,1 мл.

Тип взаємовідносини між штамами визначали модифікованим методом «паперових дисків» та за спільного росту у рідкому середовищі [113, 163].

Ураховуючи вимоги, що висуваються до штамів-пробіотиків, дослідження біологічних властивостей культур проводили за наступними методиками.

Стійкість до фенолу та NaCl визначали за Банніковою [15]

Стійкість до соляної та молочної кислот оцінювали у наступних дослідах: 12-годинні культури молочнокислих та біфідобактерій, вирощені у відповідних поживних середовищах, підкислювали соляною кислотою до рН 3 та рН 2 і молочною кислотою до рН 4 і рН 3. Варіанти з соляною кислотою витримували у термостаті за температури 37 °С протягом 5 год, з молочною – 24 год. Відразу після підкислення, через 1, 3 години експозиції та в кінці експерименту відбирали зразки для аналізу активної кислотності (рН) та чисельності мікроорганізмів. Ця модель у деякому ступені імітує умови, які створюються в шлунку та у кисломолочних продуктах під час зберігання. Для оцінки толерантності заквашувальних мікроорганізмів до молочної кислоти тривалість експозиції продовжували до 24 годин.

Стійкість до жовчі. Для скринінгу жовчостійких штамів біфідобактерій застосовували метод F.A.M.Klaver & R.Van der Meer [408] з використанням сухого препарату жовчі ("Oxgall" фірми Sigma), який представляє собою суміш кон'югованих жовчних солей. Попередньо стерилізований розчин препарату додавали із розрахунку 0,3% до середовищ МРС і Блаурокк, в яких культивували відповідно молочнокислі та біфідобактерії протягом 24 год. за температури 37 °С. Жовчостійкість культур оцінювали за різницею в часі, через який оптична густина культури в середовищі з жовчю та без неї (контроль) досягала значення $E = 0,300$ ($\lambda = 0,540$ nm).

Про стійкість молочнокислих бактерій судили також за різницею у чисельності клітин (КУО), нагромаджених у агаризованому середовищі МРС з 10% медичної жовчі та без неї після попередньої експозиції протягом 24 год у рідкому середовищі МРС, яке містило 20% цього ж препарату.

Бактерицидну активність ефірних олій на технологічно важливу мікробіоту визначали за допомогою методу визначали модифікованим методом «паперових дисків». Готували розчини ефірних олій у гліцерині (1:1, 1:2). У підготовлені розчини вносили стерильні диски з фільтрувального паперу (діаметром 6 мм), після чого їх розкладали на поверхню середовища, попередньо засіяного досліджуваним штамом. Контрольними були чашки з

середовищем, на поверхню якого розкладали диски, просякнуті розчинами ефірних олій. Посіви інкубували за температури $(32 \pm 2)^\circ\text{C}$, врахування результатів здійснювали через 24 та 48 год. Якщо за спільного росту навколо диска, просякнутого олією, спостерігали ріст культур, то результат визначали як стимулювання розчином олії дослідних штамів. Якщо навколо диска спостерігали чисту зону без мікроорганізмів — визначали як антагонізм [141].

Антагоністичну активність штамів досліджували за методом лунок на твердому поживному середовищі та за спільного культивування з тест-культурами [115].

В роботі використовували штами патогенних та умовно патогенних тест-культур видів *Staphylococcus aureus* 209, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* O111, *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris* 2029, *Escherichia coli* 113, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* (шт. K-99, шт. 41987), *Salmonella cholerae suis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Clostridium perfringens*.

Адгезивні властивості бактерій *in vitro* застосовували модельну систему з еритроцитами з наступною реєстрацією процесу за допомоги світлового мікроскопу [28].

У дослідях використовували 24-годинну культуру кожного штаму, вирощену на рідких середовищах: МРС для лактобактерій та Блаурок для біфідобактерій. Адгезивні властивості молочнокислих бактерій оцінювали за наступними показниками: середній показник адгезії (СПА), коефіцієнт участі еритроцитів в адгезивному процесі (К) та індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ). Адгезивність вважали нульовою за СПА від 0 до 1,0, низькою — за СПА від 1,01 до 2,0, середньою за СПА 2,01 до 4,0, або ж високою - за СПА понад 4,0.

2.3.3. Визначення зоотехнічних показників

При проведенні дослідів враховували такі показники:

Жива маса - шляхом індивідуального зважування тварин кожної групи;

Абсолютний і середньодобовий приріст живої маси;

Інтенсивність росту молодняку розраховували за відносним приростом живої маси (Р,%), використовуючи формулу Броді:

$$P = (V_1 - V_0) * 100 / 0,5 * (V_1 + V_0) \quad (2.2),$$

де V_1 - жива маса на кінець періоду, кг

V_0 - жива маса на початок періоду, кг

Коефіцієнт Мелленберга (КМ) розраховували за формулою:

$$KM = \frac{\text{кількість перехворілих(гол)} \times \text{середня тривалість хвороби(діб)}}{\text{кількість дослідних тварин} \times \text{період спостереження}} \times 100 \quad (2.$$

3),

Розрахунок масових коефіцієнтів (МК) за формулою:

$$MK_{\text{органу}} = \frac{m_{\text{органу}}}{M_{\text{тварини}}} \times 100\% \quad (2.4)$$

Збереження поголів'я тварин - шляхом щоденного обліку і встановлення причин падіжу;

Витрата кормів при вирощуванні - шляхом обліку кількості задаваемого корму і зняття його залишків за певний віковий період відповідно до завдань дослідів; при цьому розраховували витрати корму на 1 кг приросту живої маси;

М'ясні якості тварин - шляхом проведення контрольного забою, для цього відбирали по 3 одиниці живої маси, середньої і відповідної для кожної групи; за результатами контрольного забою визначали масу обпатраних тушок, забійний вихід, вихід порційних частин за [214];

Індекс продуктивності (європейський індекс продуктивності) за формулою:

$$EBI = [\text{середньодобовий приріст (г)} \cdot \text{життєздатність (\%)}] / [10 \cdot \text{конверсія корму, кг}] \quad (2.5),$$

де: EBI - європейський індекс продуктивності;

У крові та її сироватці визначали наступні показники:

Кількість еритроцитів і лейкоцитів в камері Горяєва;

Гемоглобін - ціанідним методом з ацетонціангідридом [156];

Загальний білок - біуретовим методом [62];

Лізоцимна активність сироватки крові (ЛАСК) встановлювали нефелометричним методом за Дорофейчук В.Г. для визначення титр лізоциму в випробуваному матеріалі як тестову культуру використовували *Micrococcus lisodeicticus* [111].

Бактерицидна активність сироватки крові (БАСК) - фотокалориметричним методом за зміною оптичної густини м'ясопептонного бульйону при зростанні в ньому *E. coli* [42];

Диференційний підрахунок лейкоцитів (лейкограму) проводили під мікроскопом на пофарбованих по Романовському-Гімза мазках крові [2, 42].

- у сироватці крові визначали концентрацію зального білка за допомогою рефрактометра РДУ [170];

Мікробіологічні дослідження були проведені для визначення в фекаліях умісту бактерій: кишкової палички (*E. coli*), ентерококів (*Enterococcus spp.*), Стафілококів (*Staphylococcus spp.*), лактобактерій (*Lactobacterium spp.*), клостридій (*Clostridium spp.*), дріжджів, біфідобактерій (*Bifidobacterium spp.*) – за загальновизнаними методиками [288].

2.3.4. Фізико-хімічні методи

Вміст загального азоту (за методом К'ельдаля), небілкового і білкового азоту визначали за Журавською [214].

Фракційний склад білків – методом електрофорезу в поліакриламідному гелі (ПААГ) за Лемлі [413] Підготовку зразків здійснювали шляхом знежирення гексаном, висушування білка і розчинення у трис-НСІ буфері (рН 8,3) з дисульфатом натрію та β-меркаптоетанолом.

Кількісну оцінку білкових фракцій проводили спектрофотометрично за допомогою сканувального денситометра. Денситограми отриманих гелів обробляли за допомогою комп'ютерних програм Image Pro Gel Analyzer Version 2.0 та Total Lab 1D;

Загальну кількість вільних циклічних амінокислот – методом Хулла [403] та ациклічних – методом Гомеса [382].

Масову частку жиру – методом Сокслета – екстрагуванням зразків петролейним ефіром та сушінням жиру до постійної маси після випаровування розчинника за ДСТУ ISO 1443:2005;

Масову частку золи – сухою мінералізацією зразків у муфельній печі за температури $(550 \pm 25)^\circ\text{C}$ за ДСТУ ISO 936:2008;

Масову частку хлориду натрію визначали у водяній витяжці з проби за методом Мора у нейтральному середовищі [8];

Ступінь окиснювального псування жиру – за перекисним числом, яке визначається методом окиснення йодистоводневої кислоти пероксидами, що містяться в жирі, з подальшим титруванням виділеного йоду тіосульфатом натрію [8];

Ступінь гідролітичного псування жиру – за кислотним числом, яке визначали методом титрування вільних жирних кислот у ефіро-спиртовому розчині жиру водним розчином лугу [8].

Концентрацію іонів водню (pH) – потенціометрично за допомогою іоновимірювача лабораторного марки «И-160М» із точністю вимірювань до $\pm 0,02$ за ДСТУ ISO 2917:2001;

Активність води (a_w) – за допомогою приладу «Aqua Lab» серії 3 TE з точністю вимірювань до $\pm 0,003$ за ДСТУ ISO 21807:2007;

Оцінювання за органолептичними показниками здійснювали згідно з ДСТУ 4823.2:2007.

Амінокислотний склад білків досліджували після гідролізу зразків продукту сумішшю 6 N соляної та 4 % тіогліколевої кислот за температури 105-110 °С упродовж 48 год у середовищі CO₂ та наступного випарювання під вакуумом за температури 45 °С. Ідентифікацію амінокислот виконували на автоматичному амінокислотному аналізаторі «Biotronik LC 2000» [212].

Амінокислотний скор визначали за формулою:

$$a_c = \frac{AK_{\text{продукту}}}{AK_{\text{стандарту}}} \times 100, \quad (2.6)$$

де $AK_{\text{продукту}}$ – вміст незамінної амінокислоти у 1 г дослідного білка, мг;

$AK_{\text{стандарту}}$ – вміст тієї ж амінокислоти у 1 г «ідеального» (стандартного) білка, мг;

100 – коефіцієнт перерахунку у відсотках.

Стандартом для розрахунку амінокислотного скору була амінокислотна шкала ФАО/ВООЗ;

Вологоутримувальна здатність При виконанні аналізу беззольний фільтр кладуть на плексигласову пластинку. Зразок м'ясного фаршу (0,3 г) зважують на кружальці із поліетилену такого ж розміру, як і вагова чашечка.

Переносять на фільтрувальний папір таким чином, щоб наважка була знизу, під поліетиленом. Поверх неї кладуть плексигласову пластинку такого ж розміру, як і нижня, на неї ставлять вантаж (1 кг). Через 10 хвилин вантаж знімають, звільняють фільтр з наважкою від нижньої плексигласової пластинки, на фільтрі хімічним олівцем обводять контур пресованого м'яса, а контур вологої плями вимальовується сам при висиханні фільтра.

За допомогою планіметра визначають площу плям (в см²), утворених спресованим м'ясом і виділеною вологою, що увібралася фільтром.

Розмір вологої плями обчислюють за різницею між загальною площею плями і площею плями, утвореної спресованим м'ясом. Експериментальне встановлено, що 1 см² площі вологої плями відповідає 8,4 мг води.

Визначення інтенсивності забарвлення м'язової тканини Подрібнений зразок м'язової тканини вагою 7,5 г змішують з рівною кількістю дистильованої води і заливають 38,5 см³ суміші, що складається з 1000 см³ ацетону та 2,5 см³ концентрованої соляної кислоти. Екстрагування продовжується упродовж 1 години при мінімальному надходженні повітря. Потім забарвлений екстракт двічі фільтрують через складчастий фільтр та вимірюють коефіцієнт екстинкції на ФЕК-М із застосуванням зеленого світлофільтра (товщина кювети 10 мм). Для зрівняння (контрольна кювета) іде чиста суміш ацетону і соляної кислоти. Оптичну густину вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 540 нм відносно солянокислого ацетону.

Вміст нітрозопігментів щодо загальної кількості пігментів обчислюють за формулою:

$$x = (E_{540}^{NO} / E_{540}^{OX}) 100 \quad (2.7),$$

де x - вміст нітрозопігментів, %;

E_{540}^{NO} - оптична густина розчину нітрозопігментів;

E_{540}^{OX} - оптична густина розчину, що містить всі пігменти, які присутні в продукті.

2.3.5. Структурно-механічні показники

Структурно-механічні дослідження проводили на універсальній механічній тест-машині «SANS» серії CMT за допомогою спеціальних насадок: Уорнера-Бретцлера для визначання зусилля зрізу та плунжера – для

визначення пружності. Обчислення показників проводили за допомогою програмного забезпечення Power Test_DOOE.

2.3.6 Визначення біологічної цінності

Визначення інтегральної токсичності отриманих продуктів проводили методом біотестування з використанням культури одноклітинних мікроорганізмів *Tetrahimena pyriformis* [135].

Підрахунок та морфологію клітин *Tetrachymena pyriformis* досліджували з використанням камери Горяєва за допомогою біологічного біноккулярного мікроскопу «XSP – XY» з фото/відео виходом та цифровою мікроприставкою з адаптером «Canon Power Shot G6».

Калорійність

На підставі даних хімічного аналізу вираховували калорійність м'яса за формулою Александрова:

$$K = (C - (ж + з) \times 41 + ж \times 93, \quad (2.8)$$

де K-калорійність натурального м'яса, ккал/кг;

C - суха речовина, %;

ж - жир, %;

з - зола, %;

41 - калорійність 10 г протеїну, ккал (1% від кг);

93 - калорійність 10 г жиру, ккал (1% від кг).

2.3.7. Умови культивування мікроорганізмів Вивчення

закономірностей росту чистих культур та їхніх комбінацій проводили в лабораторних умовах за періодичного культивування на відповідних середовищах в статичних умовах за оптимальної температури росту. Відбір

зразків культуральної рідини для аналізів проводили через кожні дві-три години.

Нагромадження біомаси заквашувальних культур дослідних партій бактеріальних препаратів здійснювали в напівпромислових ферментерах з робочим об'ємом 75 л за необхідних для кожного конкретного препарату умов та режимів.

2.3.8. Дослідження ростових параметрів культур мікроорганізмів та їхніх композицій

Закономірності росту чистих культур та їхніх композицій вивчали в лабораторних та напівпромислових умовах у відповідних поживних середовищах, застосовуючи періодичне культивування. У лабораторних умовах культивування здійснювали в ємностях об'ємом 1-5 л. Відбір зразків для аналізів проводили асептично та відповідно до схеми конкретного експерименту.

Опрацювання режимів та параметрів виробництва бактеріальних препаратів здійснювали в напівпромислових ферментерах з загальним та робочим об'ємом 100 дм³ та 1000 дм³.

Показники розвитку бактеріальних культур у поживних середовищах оцінювали за питомою швидкістю росту (μ , год⁻¹), урожайністю (X , мг), економічним коефіцієнтом (Y), тривалістю лаг-фази (T_l), константою швидкості поділу (число поділу клітини за 1 год) (v , год⁻¹) та терміном регенерації, що характеризує термін, необхідний для одного циклу поділів клітини (g, год) [243].

Розрахунок цих параметрів здійснювали на підставі кривих росту мікроорганізмів в координатах $lg KVO$ – тривалість культивування або за кількістю сухої бактеріальної маси (x) в одиниці об'єму та тривалості культивування. Чисельність мікроорганізмів визначали за кількістю КУО на

агаризованому поживному середовищі, використовуючи метод граничних десятикратних розведень. Масову частку сухого бактеріального залишку визначали висушуванням при 105°C осаджених і відмитих бактеріальних суспензій. Концентрацію біомаси в досліджуваних середовищах розраховували виходячи з того, що $(1,00 \pm 0,05) \times 10^{10}$ КУО/см³ становили 4, 2-6,5 мг/см³ сухого бактеріального залишку.

2.3.9. Умови одержання сухих препаратів

Біомасу відокремлювали від культуральної рідини шляхом центрифугування, змішували з охолодженим захисним середовищем у співвідношенні 1:2 і визначали чисельність життєздатних клітин в них до і після ліофілізації. Сушіння проводили на сублімаційній сушарці ТГ15 за наступних режимів: початкова температура мінус $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$, кінцева – плюс $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$, залишковий тиск не більше $13,3 \cdot 10^3$ Па (0,133 кг с/см²). Тривалість сушіння 24 - 28 год.

2.3.10 Молекулярно-генетичні методи.

Визначення культури *Lactobacillus acidophilus* за допомогою пари специфічних олігонуклеотидних праймерів методом полімеразної ланцюгової реакції у заквасках, бактеріальних препаратах та ферментованих харчових продуктах, в якому для визначення ДНК культур *Lactobacillus acidophilus* використовували пару олігонуклеотидних праймерів до гену LA14_RS09905.

Підбір пари праймерів проводили згідно правил молекулярного дизайну. Для підбору праймерів використовують програми Primer [123].

Порівняльний аналіз підібраної пари специфічних олігонуклеотидних праймерів здійснювали за допомогою програми Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) для виключення фрагментів, гомологічних до ДНК споріднених та неспоріднених видів.

Визначення культури *Lactobacillus acidophilus* за допомогою пари специфічних олігонуклеотидних праймерів методом полімеразної ланцюгової реакції для проведення полімеразної ланцюгової реакції використовували реакційну суміш з термостабільної Таq-полімерази, відповідного десятикратного розведення ПЛР-буферу з $MgCl_2$, розчину чотирьох дезоксирибонуклеотидтрифосфатів, праймерів та проб в об'ємі:

H ₂ O	8,5 мкл
Таq-полімераза	0,5 мкл
10X буфер з $MgCl_2$ 25 мМ	2 мкл
dNTP 0,5 мМ	2 мкл
праймер 1F (10 пкМ/мкл)	2,5 мкл,
праймер 2R (10 пкМ/мкл)	2,5 мкл,
проба	<u>2 мкл,</u> 25 мкл,

Отримували аліквоти 1-5 об'ємом 25 мкл для проведення полімеразної ланцюгової реакції.

Полімеразну ланцюгову реакцію 5-ти аліквот проводили у термоциклері «GeneAmp PCR System 9600» з відповідним програмним забезпеченням. Параметри:

- початкова стадія денатурації ДНК при 95°C впродовж 2 хвилин;
- 40 циклів, які складаються з:
 - етапу при 95°C впродовж 30 секунд,
 - етапу при 60°C впродовж 30 секунд,
 - етапу при 72°C впродовж 60 секунд;
- кінцева стадія елонгації при 72°C впродовж 5 хвилин.

У кожній з аліквот використовували пару специфічних олігонуклеотидних праймерів до гену LA14_RS09905:

прямий праймер Lac F 5'- AGATTGGAAACGGCTTTGACA -3' 21 bp та

зворотній праймер Lac R 5'- CATCACGGTGTTCAGTCCAA -3' 20 bp – для

ампліфікації 223 bp фрагменту ДНК культури *Lactobacillus acidophilus*, разом з різними пробами ДНК.

Результати полімеразної ланцюгової реакції аліквот 1-5 наведено в таблиці 2.3

Таблиця 2.3

Перевірка роботи пари специфічних олігонуклеотидних праймерів за
ПЛР по визначенню ДНК бактеріальних препаратів

№ алік- воти	Проба ДНК	Праймери	Амплі- фікат
1	проба ДНК йогурту, який містить <i>Lactobacillus delbrueckii subspecies bulgaricus</i>	Ldsb F 5'- TGTCAGCGTTGTTCTTGGTG - 3' 20 bp Ldsb R 5'- CCAAGCCTCCGTTGAACAAA -3' 20 bp	110 bp
2	проба ДНК бактеріального препарату Лактіале, який містить <i>Lactobacillus delbrueckii subspecies bulgaricus</i>	Ldsb F 5'- TGTCAGCGTTGTTCTTGGTG - 3' 20 bp Ldsb R 5'- CCAAGCCTCCGTTGAACAAA -3' 20 bp	110 bp
3	проба ДНК бактеріального препарату Danisco TA Lyo 125DCU, який не містить <i>Lactobacillus delbrueckii subspecies bulgaricus</i>	Ldsb F 5'- TGTCAGCGTTGTTCTTGGTG - 3' 20 bp Ldsb R 5'- CCAAGCCTCCGTTGAACAAA -3' 20 bp	-
4	проба ДНК бактеріального препарату Лактуале, який містить <i>L.delbrueckii subspecies bulgaricus</i>	Ldsb F 5'- TGTCAGCGTTGTTCTTGGTG - 3' 20 bp Ldsb R 5'- CCAAGCCTCCGTTGAACAAA -3' 20 bp	110 bp
5	Деіонізована вода	Ldsb F 5'- TGTCAGCGTTGTTCTTGGTG - 3' 20 bp Ldsb R 5'- CCAAGCCTCCGTTGAACAAA -3' 20 bp	-

- не виявлено, не ідентифіковано.

Амплікони характерної довжини 223 bp специфічного фрагменту ДНК гену LA14_RS09905 культури *Lactobacillus acidophilus* розрізняється після електрофоретичного розділення в агарозному гелі.

Для розділення фрагментів ДНК, отриманих під час ПЛР, проводили електрофорез у 2% агарозному гелі в тріс-ацетат-EDTA буфері, який містив барвник бромистий етидій для фарбування ампліконів і подальшої візуалізації результатів під дією ультрафіолетових променів.

З кожної аліквоти 1-5 відібрали по 10 мкл;
кожні 10 мкл аліквоти змішали з 3 мкл буферу для нанесення.

У лунки 2% агарозного гелю вносили:

- у лунку 1 внесли маркер молекулярної ваги з кроком 50 bp;
- у лунки з 1 по 5 внесли аліквоти 1-5.

Проводили електрофорез за напруги 70 В. Результати електрофорезу оцінювали, переглядаючи та фотографуючи гель в ультрафіолетовому світлі з довжиною хвилі 254 нм на приладі «Трансілюмінатор» (Додаток Е.8).

2.3.11. Статистична обробка експериментальних результатів.

Для обробки одержаних експериментальних даних застосовували пакет програмного продукту STATISTICA[®]5.XX for Windows (StatSoft Inc., USA) з урахуванням рекомендацій, наведених у посібнику С.Н.Лапача зі співав. Графічну обробку результатів здійснювали за допомогою програми Microsoft Excel 7.0, мікрофотограм мікроорганізмів – програмного продукту Motic Images 2000.

РОЗДІЛ 3. АНАЛІЗ МІКРОБІОТИ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН

Нині вивченню нормальної мікробіоти привертає до себе все більшу увагу як в загально біологічному, так і у клінічному плані, в зв'язку із створення нових кормових продуктів на основі пробіотиків. Відомо, що нормальна мікробіота кишківника виконує важливу роль у життєдіяльності організму хазяїна. За сучасними поглядами, нормальна мікробіота розглядається, як якісне та кількісне співвідношення популяцій мікроорганізмів, що підтримує біохімічну, метаболічну та імунну рівновагу макроорганізму, і є вкрай необхідною для збереження гомеостазу [140, 186]. Вищезгадане спонукало до визначення наукового завдання - встановити якісне і кількісне співвідношення мікроорганізмів, що перебувають у порожнині кишечника тварин та птиці, вивчити основні біологічні властивості вилученої мікробіоти.

3.1 Скринінг мікроорганізмів з кишківника тварин

Однією з важливих умов отримання ефективних мікроорганізмів є вилучення їх з біотипів організму - природного середовища мешкання, до якого вони мають повернутися у складі функціональних продуктів. Тому виділення штамів лакто- і біфідобактерій проводили із зразків фекалій (товстий кишечник) телят, поросят та птиці різного віку, що належали господарствам тривалий час благополучним щодо шкулкового-кишкових захворювань.

Аналіз кишкової мікробіоти різних сільськогосподарських тварин показав певні особливості, що стосувались окремих груп мікроорганізмів (табл.3.1, рис. 3.1).

Зокрема, у фекаліях телят, на відміну від поросят та птиці, були присутні у значній кількості пропіоновокислі бактерії та БГКП і не виділялись анаеробні спороутворювальні бактерії роду *Clostridium*. Дещо меншою порівняно з поросятами та птицею була частка лактобактерій – 9 %.

У поросят спостерігали високий вміст потенціальних збудників інфекцій клостридій та стафілококів. Це не є несподіванкою, оскільки ці мікроорганізми як правило широко поширені на свинофермах і представляють істотну загрозу для здоров'я та життя тварин [45].

Таблиця 3.1

Мікробіота кишківника телят, поросят та птиці

Мікроорганізми	Кількість мікроорганізмів (КУО/г)		
	Телята	Поросята	Птиця
Біфідобактерії	$(1,0-1,3) \times 10^6$	$(2,1-4,5) \times 10^7$	$(5,1-8,5) \times 10^7$
Лактобактерії	$(2,4-5,6) \times 10^6$	$(2,4-5,2) \times 10^7$	$(1,4-4,4) \times 10^6$
Ентерококи	$(1,7-4,2) \times 10^5$	$(2,4-7,7) \times 10^4$	$(5,6-8,8) \times 10^6$
Пропіоновокислі бактерії	10^5	10^2	10^3
Лактозопозитивні БГКП	$(3,3-5,2) \times 10^5$	$(3,2-6,6) \times 10^5$	$(4,1-7,1) \times 10^5$
Лактозонегативні БГКП	$(5,4-6,8) \times 10^4$	$(2,8-5,4) \times 10^4$	$(1,3-4,4) \times 10^4$
Бактерії роду <i>Proteus</i>	10^4	10^3	10^5
Стафілококи	$(1,8-5,2) \times 10^4$	$(3,4-4,1) \times 10^4$	$(4,7-5,9) \times 10^2$
Анаеробні спороутворювальні бактерії роду <i>Clostridium</i>	відсутні	$(2,2-3,6) \times 10^4$	$(3,2-5,6) \times 10^5$
Дріжджі	$(3,6-7,1) \times 10^5$	$(1,4-2,8) \times 10^4$	$(4,4-6,1) \times 10^5$

Кишкова мікробіота птиці вирізнялась більшим вмістом ентерококів і лактобактерій. Значно меншою була частка стафілококів. На противагу від

телят у поросят і птиці кількість пропіоновокислих була майже вдвічі меншою, що можна пояснити різною структурою травної системи у цих тварин. Що стосується біфідобактерій, то їх частка для поросят складала 10 %, а у птиці 11 %. За кількістю дріжджів істотних розбіжностей не виявлено у всіх обстежених тварин.

Оскільки відомо, що лакто- та біфідобактерії характеризуються високим пробіотичним потенціалом тому дослідження було спрямовано на вилучення цих груп мікроорганізмів.

Для нагромадження біфідобактерій використовували рідкі та напіврідкі середовища тіогліколятне середовище, середовище Блаурокк із додаванням суміші антибіотиків та токсинів (NNLP) і, ГМ напіврідке і інкубацію здійснювали за анаеробних умов. Для вилучення молочнокислих бактерій застосовували такі середовища: с МРС, ГБ та відновлене знежирене молоко.

Означені середовища характеризуються виразною селективністю і тому були використані для виділення чистих культур молочнокислих та біфідобактерій [46].

Встановлено, що більшість отриманих мікробних культур були неоднорідними, про що свідчить утворення різних за морфологією колоній. Далі культуральну рідину із нагромаджувальних культур висівали на відповідні селективні тверді середовища для отримання ізольованих колоній. Загалом із нагромаджувальних культур біологічного матеріалу було одержано 234 ізоляти (табл. 3.2).

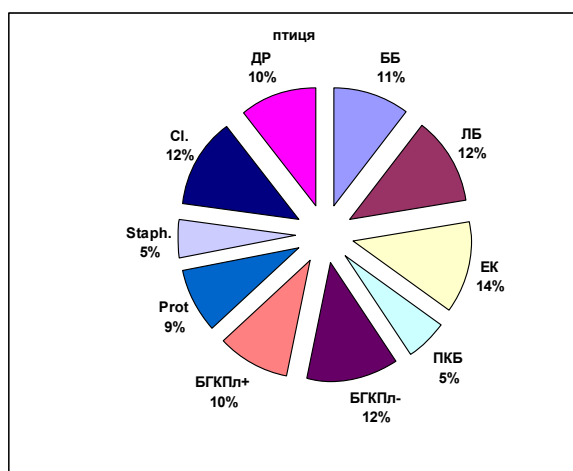
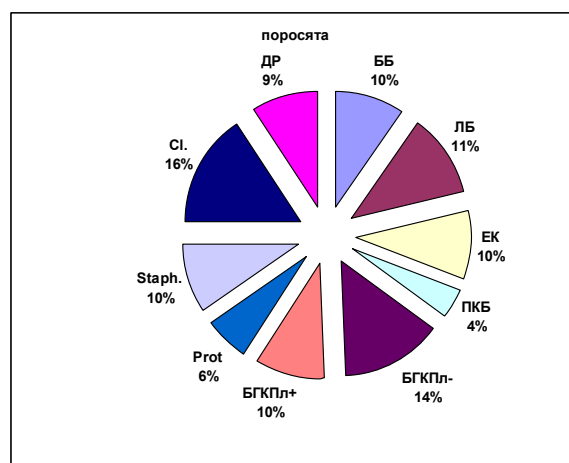
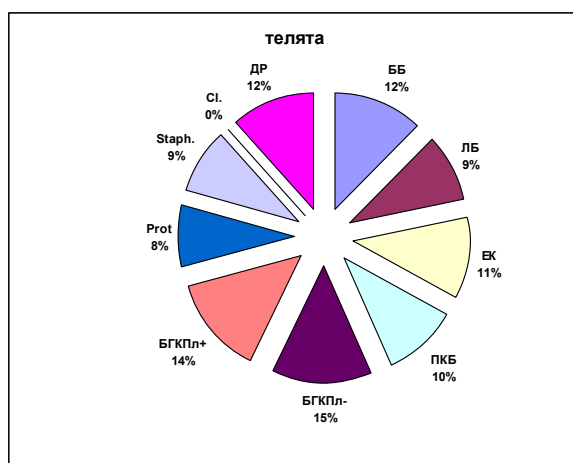


Рис. 3.1 – Склад кишкової мікробіоти сільськогосподарських тварин (ББ – біфідобактерій, ЛБ – лактобактерії, ЕК – ентерококи, ПКБ – пропіоновокислі бактерії, БГКПл- - лактозо негативні, БГКПл+ - лактозопозитивні БГКП, Prot – бактерії роду *Proteus*, Staph – бактерії роду *Staphylococcus*, Cl – бактерії роду *Clostridium*)

Із організму телят було вилучено 45 ізолятів лактобактерій і 23 біфідобактерій; поросят, відповідно 49 і 14, та із біологічного матеріалу птиці 82 і 21 відповідно.

Таблиця 3.2

Кількість ізолятів лакто- і біфідобактерій та джерело їх вилучення

<i>Кількість ізолятів, шт</i>								
<i>Телята</i>			<i>Поросята</i>			<i>Птиця</i>		
Лактобактерій		Біфідо- бактерій	Лактобактерій		Біфідо- бактерій	Лактобактерій		Біфідо- бактерій
Коки	палички		коки	палички		коки	палички	
11	34	23	18	31	14	25	57	21
Разом: 45		23	Разом 49		14	Разом: 82		21

Лактобактерії росли на щільних поживних середовищах, формуючи білі або сіруваті колонії, діаметром від 1 мм до 5 мм, інколи лінзоподібної або зіркоподібної форми. Поверхня колоній була переважно гладенькою і блискучою (S-форма), проте в окремих випадках спостерігали шорсткі колонії (R-форми). У рідких поживних середовищах лактобактерій росли, утворюючи рівномірну каламуть та дрібнодисперсний осад. У препаратах, пофарбованих за Грамом, виявляли прямі чи злегка зігнуті грампозитивні палички, зазвичай, розташовані поодинокі або ж короткими ланцюжками, без ознак споро- чи капсулоутворення.

Ступінь чистоти вирощених культур оцінювали на підставі морфологічної однорідності після мікроскопіювання. Цю процедуру довелося проводити для кожної нагромаджувальної культури 2-3 рази, тому, що зразки, з яких їх було виділено, характеризувалися різноманітними морфологічними формами.

Серед культур, які попередньо були віднесені до молочнокислих бактерій, близько половини були представлені різними за розмірами паличками, а в іншій половині переважали коки і диплококи [50].

Біфідобактерії за своєю морфологією розподілялись на 2 типи – прямі зернисті палички (16 культур) і розгалужені, розширені з одного кінця клітини, значно менші за розміром (18 культур).

Оскільки лактобактерії були виділені із організму тварин необхідно було перевірити їх здатність до розвитку в молоці. Встановлено, що лише 32% від усіх перевірених культур могли згортати молоко. Утворений згусток був щільним, без відділення сироватки, за винятком двох ізолятів, для яких спостерігали значний гідроліз казеїну. Під час повторних пересівів у знежирене молоко половина із цих ізолятів втрачала здатність до згортання молока, незалежно від температури культивування (30, 37, або 43 °C). Кислотність молока на момент утворення згустку і її граничне значення після витримання за оптимальної температури протягом 7 діб у термостаті коливалися в межах від 28 до 280 °T. Цікавим був той факт, що 10 ізолятів

згортали молоко за низької кислотності (28-36) °С. Така картина не є характерною для лактобактерій і цілком ймовірно що ці ізоляти представлені іншими групами мікроорганізмів. Ці культури до подальших досліджень не залучали.

Біфідобактерії росли у напіврідкому середовищі у вигляді “гвіздків”, “витягнутих веретен”, іноді у вигляді “смуг”, які розташовувались вздовж пробірки. У товщі агару утворені колонії мали вигляд великих “дисків” або “гречаних зерен” (рис 3.2).

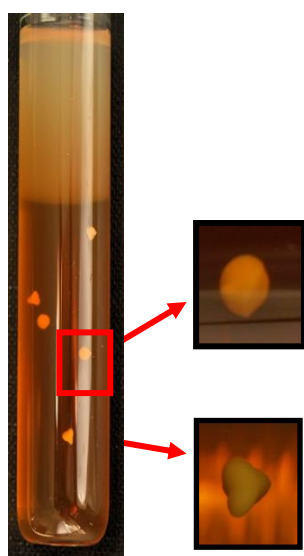


Рис. 3.2 – Картина росту біфідобактерій у твердому середовищі ГМ

Мікроскопічний аналіз клітин із характерних для біфідобактерій колоній показав притаманну для цих мікроорганізмів морфологічну гетерогенність. У мазках спостерігали клітини у вигляді паличок різної форми (короткі, правильні, тонкі з загостреними кінцями; кокоподібні, довгі злегка вигнуті або із виступами, або з різноманітним розгалуженням; гострі, іноді біфурковані з закругленими або лопатоподібними кінцями; поодинокі або у ланцюжках, зіркоподібних скупченнях або ж розміщених у вигляді літери V, китайських ієрогліфів чи палісадно) (рис. 3.3).

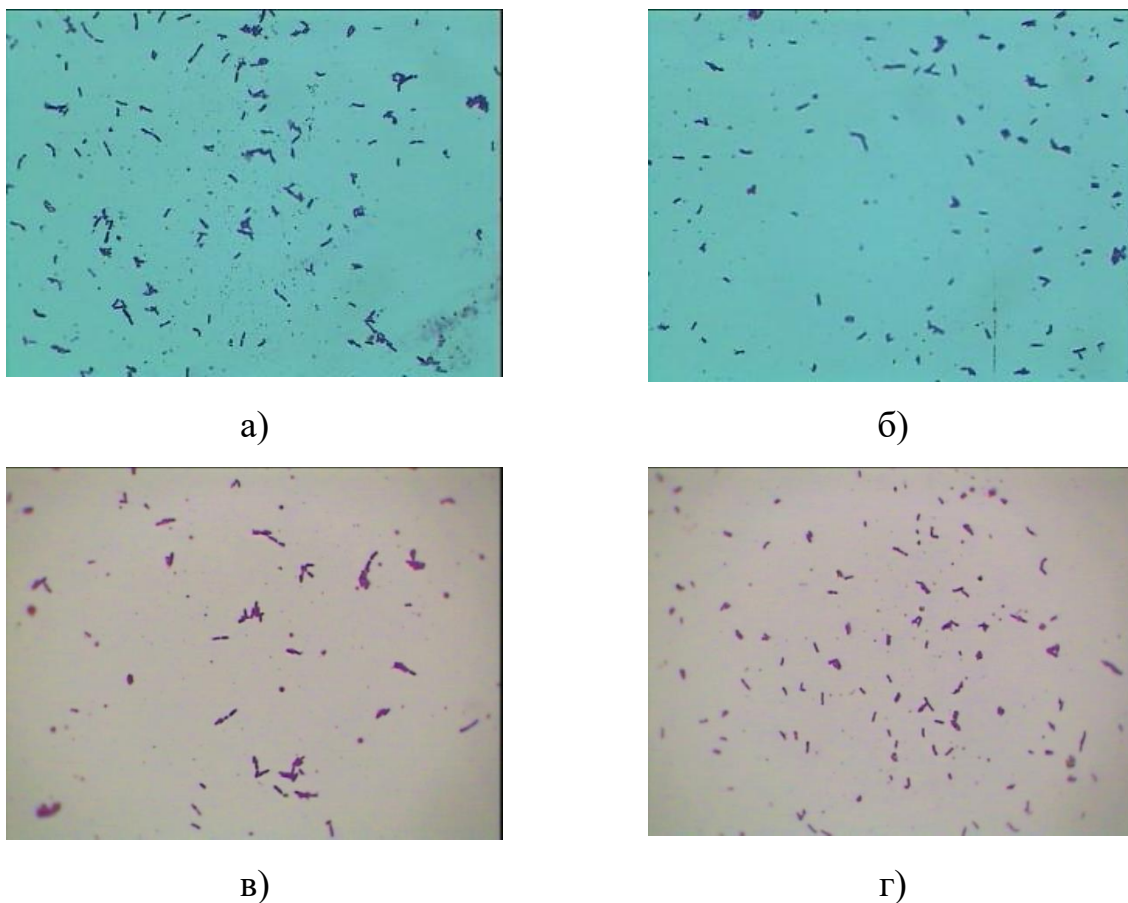


Рис. 3.3 – Мікрофотографії штамів біфідобактерій а) – *B. gallinarum* ; б)– *B. pullorum*; в) – *B. suis* 4500; г) – *B. infantis*, (світловий мікроскоп, збільшення 10x100)

Отже, на підставі викладених результатів встановлено, що у всіх досліджених нами видів тварин (телята, поросята, птиця) усталений кишковий мікробіоценоз характеризувався переважанням біфідобактерій (6,0-7,9 lg/г), лактобактерій (6,1-7,7 lg/г) третіми за чисельністю були ентерококи (5,5-6,9 lg/г), четвертими та п'ятими – лактозопозитивні та лактозонегативні БГКП (5,4-5,9 та 4,1-4,6 lg/г відповідно), шостими - пропіоновокислі 2,0-5,0 lg/г. Ці дані узгоджуються з результатами досліджень багатьох авторів, які вивчали кількісні характеристики кишкової мікробіоти у здорових тварин і людини [6, 60, 241, 285].

Отримані результати опубліковано у роботі [274].

3.2 Ідентифікація штамів молочнокислих та біфідобактерій, виділених із біологічного матеріалу сільськогосподарських тварин

Визначення видової приналежності штамів молочнокислих та біфідобактерій, ізольованих із природних джерел розповсюдження, проводили за ключами для родів *Lactobacillus*, наведеними у визначнику Бергі, біфідобактерій – за характерними для них критеріями. Ферментативні властивості вивчали за принципом «субстрат у поживному середовищі», використовуючи мікроб'ємну тест-систему API 50 CH «Bio Merieux» Франція і програмного забезпечення API WEB за 50 параметрами (рис. 3.4) для молочнокислих мікроорганізмів та тест-систему api® 20 A (bio Mérieux) і програмного забезпечення API WEB по 20 параметрам (рис. 3.4).



Рис. 3.4 – Тест система API 50 CHL ідентифікації *L. plantarum*

Ідентифікація штамів молочнокислих бактерій, отриманих від різних тварин, свідчить про їх видовий плюралізм.

Штами, що ферментували глюкозу, галактозу, лактозу, сахарозу, мальтозу, манозу, саліцин і не ферментували маніт, арабінозу, ксилолу, рамнозу, сорбіт та гліцерин і мали характерні тинкторіальні та культурально-морфологічні властивості для лактобактерій, було віднесено попередньо до виду *L. acidophilus* [275].

Штами, які ферментували глюкозу, галактозу, лактозу, сахарозу, мальтозу, та не ферментували маніт, арабінозу, ксилолу, рамнозу, сорбіт,

саліцин, гліцерин, декстрин та крохмаль та мали інші характерні ознаки, були визначені як *L. delbrueckii ssp bulgaricus* [275]

Штами, що ферментували глюкозу, галактозу, лактозу, сахарозу, мальтозу, маніт, ксилолу, манозу, саліцин та декстрин і не зброджували рафінозу, рамнозу і гліцерин належали до *Lb. lactis*.

Штами які ферментували глюкозу, галактозу, лактозу, сахарозу, мальтозу, маніт, ксилолу, манозу, саліцин, декстрин і не ферментували рафінозу, рамнозу, гліцерин віднесли до *L. casei* [275].

Штами які зброджували глюкозу, галактозу, лактозу, сахарозу, мальтозу, манніт, ксилол, сорбіт, рафінозу, саліцин, декстрин і не ферментували рамнозу, гліцерин і крохмаль – належали до *L. plantarum* [275].

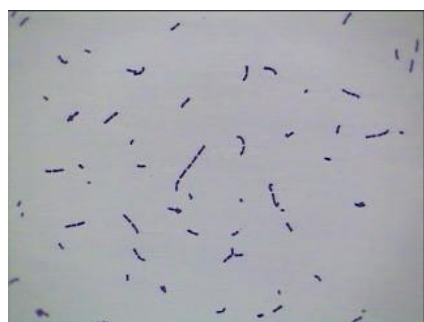
До виду *L. rhamnosus* віднесено штами, які ферментували глюкозу, галактозу, лактозу, мальтозу, рамнозу, сорбіт, маніт, манозу, рибозу, сахарозу, трегалозу, не ферментували арабінозу, фруктозу, інозит, мелібіозу, рафінозу, ксілозу.

Штами які ферментували рибозу, галактозу, глюкозу, фруктозу, лактозу, манозу, арабінозу, сорбіт, саліцин, сахарозу, трегалозу і не ферментували рамнозу, маніт, мальтозу, гліцерин, декстрин, інозит, рафінозу, віднесено до *L. paracasei ssp.paracasei*.

До виду *L. helveticus* віднесено штаму, який ферментував фруктозу, галактозу, глюкозу, лактозу, мальтозу, манозу, не ферментував арабінозу, маніт, мелібіозу, рафінозу, рамнозу, сорбіт, сахарозу, ксилолу.

Основні технологічні характеристики молочнокислих бактерій наведено в додатку А.2.1.

Визначені, як біфідобактерії штами характеризувалися такими ознаками: були анаеробними, каталазонегативними, грампозитивними, нерухомими поліморфними паличками, не здатними до утворення спор. Усі досліджені штами зброджували лактозу, глюкозу, галактозу та фруктозу без утворення газу і не зброджували глюконат, сорбіт та маніт; не утворювали аміак з аргініну та нітрит із нітрату і не гідролізували желатину.



а)



б)



в)



г)



д)



е)

Рис. 3.5 – Мікрофотографії штамів лактобактерій а) *L. casei*; б) *L. plantarum*; в) *L. paracasei*; г) *L. acidophilus*; д) *L. brevis*; е) *L. sakei* (світловий мікроскоп, збільшення 10х100)

Культура, вилучена із біологічного матеріалу поросят ферментувала рамнозу, декстрин, ксилолу, мелібіозу, сахарозу, галактозу, мальтозу, арабінозу, рафінозу, не ферментувала – рибозу, целобіозу, меліцитозу, сорбіт, трегалозу, маніт. Такий тип ферментації є характерною ознакою для виду *B. suis*.

Два штами біфідобактерій, вилучених з кишківника телят, ферментували інουλін, ксилозу, крохмаль, целобіозу, саліцин та трегалозу, що дозволило їх віднести до виду *B. infantis*.

Штам, вилучений із біологічного матеріалу птиці ферментував мальтозу, трегалозу, манозу, лактозу, мальтозу, сахарозу, маніт, фруктозу, декстрин, рафінозу і не ферментував арабінозу сорбіт, декстрин, рибозу, рамнозу, ксилозу, целобіозу, меліцитозу було віднесено до роду *B. pullorum*.

Вилучений із кишеника сліпої кишки птиці штам, яка ферментував арабінозу, лактозу, глюкозу, сахарозу, мальтозу, галактозу, рамнозу, декстрин, манозу і не ферментував рамнозу, маніт, сорбіт, дульцит, рибозу, трегалозу – визначено як *B. gallinarum*.

До виду *B. adolescentis* віднесено культуру, яка ферментувала глюкозу, сахарозу, лактозу, ксилозу, галактозу, манозу, мальтозу, рафінозу, не ферментувала маніт, сорбіт, рамнозу, гліцерин.

B. bifidum ферментувала глюкозу, сахарозу, лактозу, галактозу, мальтозу, рафінозу, не ферментувала маніт, рамнозу, ксилозу, манозу, гліцерин.

B. longum ферментувала глюкозу, сахарозу, лактозу, галактозу, манозу, мальтозу, рафінозу, не ферментувала маніт, сорбіт, рамнозу, ксилозу, гліцерин.

У таблиці Додатку А.1. подано детальну морфологічну та фізіологічну характеристику згаданих вище штамів біфідобактерій, основні технологічні властивості наведені в Додатку А.2.2.

Слід зазначити, що ці штами також різнилися за характером росту у напіврідкому середовищі [51]. Характерні ознаки росту їх подано на рис. 3.6.



а)

б)

Рис. 3.6 – Ознаки росту біфідобактерій у напіврідкому поживному середовищі ГМ: а) – *B. gallinarum* 4700; б) – *B. pullorum* 4601.

Таксономічну приналежність отриманих та ідентифікований класичними методами було підтверджено сучасним молекулярно-генетичними методом ЛПР.

Для цього були отримані амплікони 16S рДНК та здійснено їх секвенування з метою визначення нуклеотидної послідовності. Паралельно було проведено пошукове (на основі матеріалів, представлених у банках з генетичної інформації) дослідження, спрямоване на визначення ступенів спорідненості лакто- і біфідобактерій. Всього було проаналізовано 40 послідовностей 16S рДНК-гена. З числа завантажених послідовностей було відібрано 26 штамів, зокрема *L. helveticus* – 6, *L. acidophilus* – 4, *L. casei* – 6, *L. rhamnosus* – 5, *B. animalis* – 2, *B. adolescentis* – 3, *B. longum ssp. suis* – 1. Побудована за алгоритмом Neighbor-Joining дендрограма засвідчила, що філогенетично лакто- та біфідобактерії формують три незалежні клади, які складають дві групи. До першої групи належать послідовності *L. helveticus*, *L. acidophilus*, *B. animalis* та *B. adolescentis*. При цьому кожен рід формує окремий клад. Друга група представлена видами *L. casei*, *L. rhamnosus* та *B.*

longum ssp.suis. Аналіз попарних відстаней між отриманими нуклеотидними послідовностями засвідчив, що найрізноманітнішим у генетичному відношенні є вид *L. casei*. Внутрішньовидова дивергенція (відсоток нуклеотидних відмінностей) цього виду коливалась в межах 4-15 %. Дивергенція у інших видів за аналізованим геном була значно меншою – у *L. rhamnosus* вона становила 0,00-0,20 %, у *L.acidophilus* сягала лише 1,5 % [275].

Згідно з аналізом топології дендрограм побудованих за алгоритмом Neighbor-Joining, виділений нами штам *L.acidophilus* 3137, належить до кладу *L. helveticus* - *L.acidophilus*, та філогенетично є найближчим до *L. helveticus* (дивергенція 0,00%), інший штам *L.acidophilus* належить до того ж кладу та є найближчим до *L.acidophilus* (дивергенція 1,5 %). Визначений за фенотипом штам *L. casei* 37 – належить до кладу *L. casei* - *L. rhamnosus* і є найближчим за філогенетичними ознаками до *L. rhamnosus* (дивергенція 0,00-0,20%) [275].

Отже, наведені дані переконливо показують, що біфідо- і лактофлора домінує в кишечнику здорових тварин за своєю чисельністю.

Серед різноманітних властивостей цієї мікробіоти однією з найважливіших є її участь у кооперації з організмом господаря у забезпеченні колонізаційної резистентності, під якою мається на увазі сукупність механізмів, що забезпечують стабільність нормальної мікробіоти і запобігають заселенню організму господаря умовно-патогенними і патогенними мікроорганізмами. У разі зниження колонізаційної резистентності (в першу чергу зменшення біфідо- і лактофлори) відбувається збільшення числа і спектра потенційно патогенних мікроорганізмів, транслокація їх і (або) їх токсинів через стінку кишечника, що веде до розвитку ендогенної інфекції або суперінфекції різної локалізації. Найчастіше зниження колонізаційної резистентності супроводжується розвитком шлунково-кишкових захворювань [285].

Результатом застосування способу визначення культури *Lactobacillus acidophilus* 3137 за допомогою пари специфічних олігонуклеотидних праймерів методом ПЛР є ампліфікація фрагментів 223 bp специфічного

фрагменту ДНК гену LA14_RS09905 культури *Lactobacillus acidophilus*, що дозволило визначити присутність ДНК культури *Lactobacillus acidophilus* у заквасках, бактеріальних препаратах та ферментованих харчових продуктах [123] (Додаток Е.8).

Як видно на рис.3.7 у аліквотах 1, 2 присутній амплікон 223 бп, що свідчить про наявність 223 бп специфічного фрагменту ДНК гену LA14_RS09905 культури *L. acidophilus*. У аліквотах 3 – 5 амплікон 223 бп відсутній.

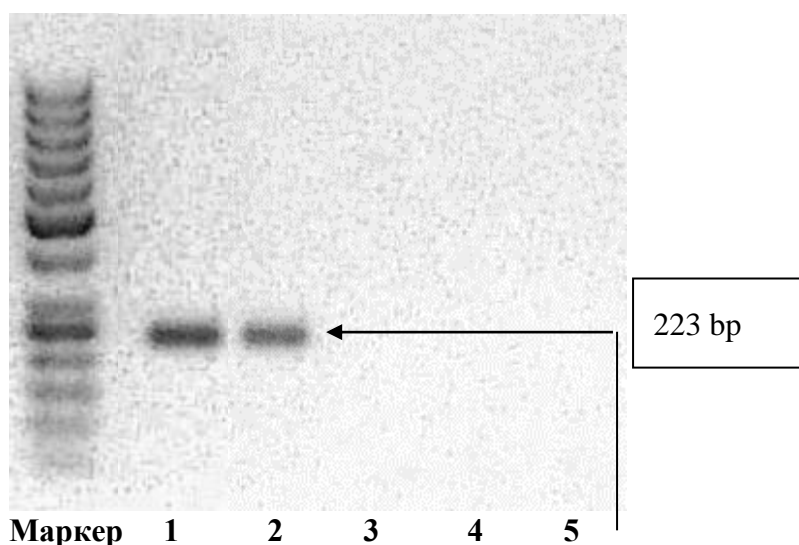


Рис. 3.7. Дієвість пари специфічних олігонуклеотидних праймерів по визначенню ДНК бактеріальних препаратів. (*L. acidophilus* 3137– 1, Лактіале – 2, Симбіотик – 3, Біфідокомплекс – 4, 5 – деіонізована вода).

3.3 Дослідження біологічних властивостей відібраних штамів мікроорганізмів

Молочнокислим та біфідобактеріям притаманний широкий спектр унікальних властивостей, які забезпечують протективну дію на організм тварин та людини. Основним критерієм відбору культур молочнокислих, пропіоновокислих і біфідобактерій для майбутніх бактеріальних препаратів служила їх біологічна активність, яка здатна забезпечити необхідний терапевтичний ефект на організм тварин, та прийнятні технологічні параметри.

Алгоритм вивчення пробіотичних штамів за комплексом біологічних властивостей для наступної розробки критеріїв відбору штамів, а також

обґрунтування можливостей та визначення ефективності їхнього використання включає: тестування за антагоністичною активністю по відношенню до патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, за адгезивною активністю, за активністю кислотоутворення, антибіотикорезистентністю тощо [99].

Важливу роль для людського організму відіграє β -галактозидаза активність молочнокислих та біфідобактерій, тому для розробки кисломолочних продуктів спеціального призначення одним з критеріїв відбору штамів до складу бактеріальних препаратів є β -галактозидазна активність [247].

3.3.1 Визначення антагоністичної активності лактобацил і біфідобактерій методом лунок

Нормальна мікробіота конкурує з патогенами. Механізм їх конкурентної дії доволі різноманітний: вибіркове зв'язування поверхневих рецепторів клітин, особливо епітеліальних; виражений антагонізм, спрямований проти патогенних видів. Такі властивості характерні для біфідо- та лактобактерій. Вони продукують кислоти, спирти, бактеріоцини, лізоцим і т.д. Окрім того, висока концентрація цих продуктів інгібує виділення токсичних субстанцій патогенними видами.

У досліджах з визначення антагоністичної активності методом лунок як тест-культури використовували такі штами: *Staphilococcus aureus* 209, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* O111, *Enterobacter cloaceae*, *Proteus vulgaris* 2029, *Escherichia coli* 113, *Pseudomonas aeruginosa* [151].

Найбільш ефективно пригнічувався розвиток гнилісних мікроорганізмів – протеїв і псевдомонадів, найменше – *B. subtilis* і *S. aureus* 209 – зони пригнічення росту для окремих представників видів *L. plantarum* 3207, *L. fermentum* 3700 і *L. lactis* 3400 не перевищували 10-15 мм. Інтенсивність прояву антагонізму лактобактерій до окремих тест-культур коливалась у вузьких межах за винятком представників видів *L. rhamnosus* 3333, *L. casei* 3309 і *L. paracasei* *sp.paracasei* 3800 серед яких спостерігали штами як з

високим рівнем активності, так і низьким. Наприклад, розмір зони пригнічення росту *E. coli* 113 штамами *L. rhamnosus* 3306 коливався від 12 до 28 мм. Загалом чіткої закономірності прояву цієї властивості у кожного із досліджених видів не простежується.

Відібрані штами молочнокислих бактерій доволі активно пригнічували розвиток використаних тест-культур – розмір зон пригнічення росту для більшості обстежених лактобактерій перевищував 20 мм. (табл. 3.3). Це підтверджує визнану тезу, що антагоністична активність є суто штамовою характеристикою.

Таблиця 3.3

Антагоністична активність виділених молочнокислих мікроорганізмів (метод лунок, діапазон варіювання розміру зони пригнічення росту тест-культури, мм)

Лактобактерії (вид, підвид)	Кількість штамів	Тест-культури						
		<i>E. cloacae</i>	<i>P. vulgaris</i> 2029	<i>E. coli</i> O111	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i> 113	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i> 209
<i>L. plantarum</i>	2	19-23	22-24	22-23	16-22	22-24	22-25	16 -18
<i>L. fermentum</i>	2	20-21	22-23	17-18	15-14	14-15	20-21	17-18
<i>L. rhamnosus</i>	2	16- 24	22- 23	13-25	12-25	12- 28	22- 23	15- 22
<i>L. casei</i>	2	18- 21	13- 23	23-24	14-18	19-26	12-24	14-27
<i>L. helveticus</i>	2	23-24	25- 26	20-24	24-26	18-27	23-25	21-25
<i>L. delbrueckii</i> <i>ssp bulgaricus.</i>	2	20-24	23-26	18-20	25-26	16-18	24-25	20-21
<i>L. lactis</i>	2	18-19	20-23	15-16	10-11	23-25	20-25	23-25
<i>L.paracasei</i> <i>sp.paracasei</i>	3	22- 26	18-22	22- 29	12-14	16-24	19-22	22-26

Здатність до пригнічення розвитку тест-культур була притаманна й для біфідобактерій вилучених із організму сільськогосподарських тварин. Усі штами, незалежно від джерела походження, згубно впливали на розвиток кишкової палички та золотистого стафілококу – величина зони затримки росту для цих культур за невеликим винятком була значною – від 28 до 19 мм (табл. 3.3, рис.3.8). Дещо менш пригнічувалися протеї та псевдомонади, а найменше – ентерококи та протеї за винятком вилученого із кишківника свиней штаму *B. suis* 4500. Біфідобактерії виду *B. gallinarum* 4700, і *B. pullorum* 4601 джерелом походження яких є організм курки, показали високий рівень антагонізму щодо тест- культур *E. coli*, *E. cloacae* і *S.aureus* 209 (зона пригнічення росту – 20-21 мм). Низький рівень антагонізму (зона пригнічення росту (10,5 – 12,0) спостерігали лише для 6 штамів незалежно від виду. Водночас штам біфідобактерій *B. longum* 4206, попри високу активність щодо усіх використаних у досліді тест-культур, не був здатним впливати на *E. cloacae* (рис. 3.8)

Таблиця 3.4

Антагоністична активність виділених біфідобактерій (метод лунок, розмір зони пригнічення росту тест-культури, мм)

Штам	Тест-культури						
	<i>E. cloacae</i>	<i>P. vulgaris</i> 2029	<i>E. coli</i> O111	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i> 113	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S.aureus</i> 209
<i>B.adolescentis</i>	10,5±0,3	14,4±0,47	22,0±0,1	18,0±0,6	28,1±0,9	24,0±0,81	28,0±0,72
<i>B. longum</i> 2406	0	18,6±0,51	25,3±0,66	16,4±0,5	24,6±0,65	22,4±0,6	25,3±0,18
<i>B. suis</i> 4500	14,2±0,2	21,9±0,84	22,1±1,06	18,5±0,3	25,3±0,71	21,3±0,7	26,2±0,73
<i>B. infantis</i> 4302	16,4±0,63	16,0±0,57	11,5±0,32	14,1±0,78	26,5±0,43	18,3±0,73	16,4±0,4
<i>B. pullorum</i> 4601	12,3±0,65	14,8±0,11	18,5±0,31	10,7±0,14	18,5±0,4	19,2±0,24	21,3±0,4
<i>B. gallinarum</i> 4700	21,0±0,21	11,3±0,6	22,0±0,35	12,0±0,24	22,5±0,23	14,0±0,26	20,5±0,35

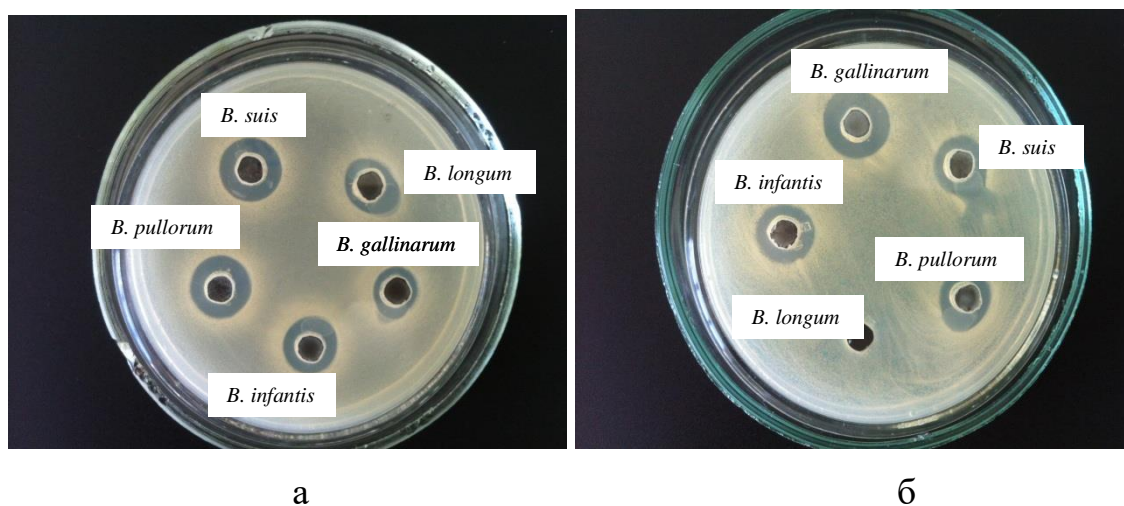


Рис. 3.8. Антагоністична активність штамів біфідобактерій бактерій по відношенню до а) до *S.aureus*209 та б) *E. cloacae*.

Проте, незважаючи на певні флуктуації в інтенсивності прояву антагонізму, вилучені штами біфідобактерій можна охарактеризувати як такі що відповідають критеріям оцінювання проботичних штамів за цією ознакою.

Виявлення штамом однієї з пробіотичних властивостей зовсім не гарантує наявності у нього інших бажаних ознак. Тому вважали доцільним дослідження інших пробіотичних властивостей.

Отримані результати опубліковано у роботах [48, 69, 151].

3.3.2 Чутливість лактобацил і біфідобактерій до кислотності

Для пробіотиків, що застосовуються орально, важливим є здатність зберігати свою життєздатність під час транзиту через верхні відділи травної системи до місця їх основної локалізації – товстого кишечника. На цьому шляху мікробіота має подолати такі бар'єри як дію ензимів травного тракту, високу кислотність шлункового соку та деструктивну дію жовчі. Наразі відомо, що під час транзиту екзогенної мікрфлори через шлунок та тонкий кишечник втрачається біля 60-70 % життєздатних клітин мікроорганізмів. Тому дуже важливо до складу пробіотиків залучати мікроргаізми, які є стійкими до цих чинників.

Оцінку кислотостійкості штамів, вилучених із організму сільськогосподарських тварин, проводили *in vitro*. Для цього кожен із культур витримували у розчинах хлористоводневої кислоти (рН 2,0 - 4,0) упродовж 1-3 год. Резистентність штамів встановлювали за кількістю клітин бактерій, що зберегли свою життєздатність після експозиції за цих умов.

Відомо, що молочнокислі та біфідобактерії, вилучені із кишківника людини, є більш стійкими до соляної кислоти ніж до молочної, а молочнокислі бактерії, вилучені з кисломолочних продуктів, навпаки, були стійкішими до молочної.

Як свідчать отримані дані, лактобацили, вилучені із організму сільськогосподарських тварин, характеризувалися доволі високою стійкістю до низької кислотності (рис.3.9, табл. 3.5)

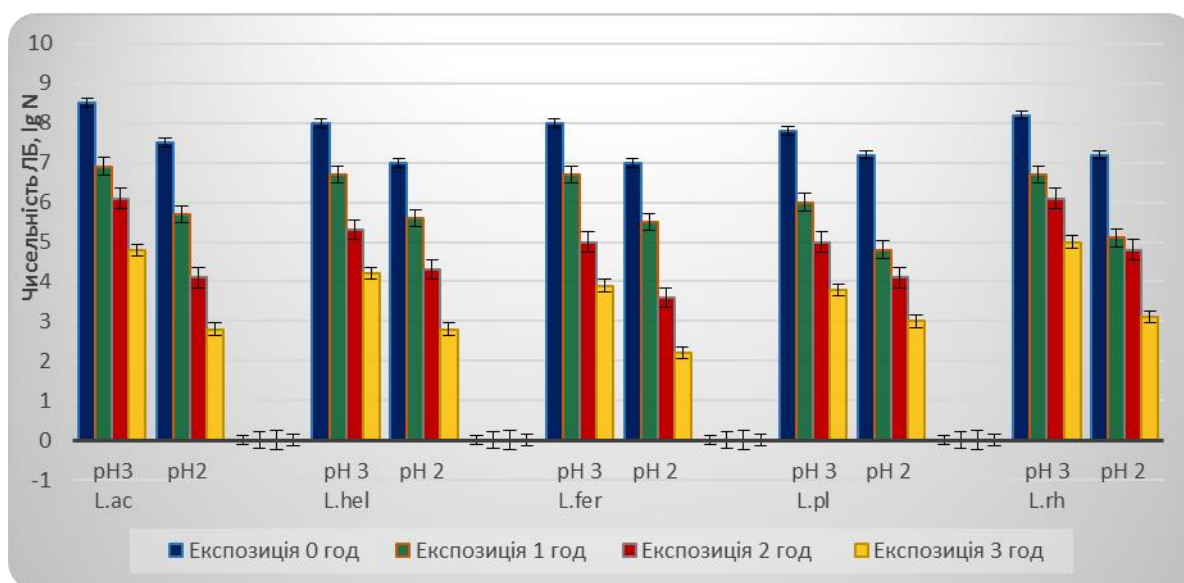


Рис. 3.9. Чисельність клітин лактобацил за різної тривалості експозиції з рН 2 і рН 3 (L.ac – *L. acidophilus* 3137, L.hel – *L. helveticus* 3605, L.fer – *L. fermentum* 3700, L.pl – *L. plantarum* 3207, L.rh – *L. rhamnosus* 3333).

Загалом частка клітин, що зберегли свою життєздатність після дії цього агресивного фактора коливалась за рН 3 від 84 % до 49 %, за рН 2 – 67 % до 31 %.

Зокрема, якщо після 1 год експозиції за рН 3 втрачалося 16-23 % від внесеної кількості мікроорганізмів, то за 2 год – їх кількість зросла до 26-36%, а за 3 год відмирало біля 50 % вихідних популяцій перевірених штамів (див.рис.3.9) [90].

Таблиця 3.5

Частка клітин, що вижили після експозиції за різної кислотності

Вид лактобактерій	Кислотність	Тривалість експозиції, год			
		0	1	2	3
<i>L. acidophilus</i> 3137	pH 3	100	81±	72	56
	pH 2	100	76	55	37
<i>L. helveticus</i> 3605	pH 3	100	84	66	52
	pH 2	100	80	66	40
<i>L. fermentum</i> 3700	pH 3	100	84	62	49
	pH 2	100	78	51	31
<i>L. plantarum</i> 3207	pH 3	100	77	64	49
	pH 2	100	67	57	42
<i>L. rhamnosus</i> 3333	pH 3	100	82	74	61
	pH 2	100	71	67	43

Дія вищої кислотності (рН 2) була більш згубною – діапазон втрат популяцій штамів досягав до 60 %. Дещо стійкішими виявилися культури *L. acidophilus* 3137, *L. helveticus* 3605 і *L. rhamnosus* 3333. Цікавою була поведінка лактобацил *L. plantarum* 3207, які втрачали значну частку клітин через 1 год, тоді як за подальшої експозиції їхні врати були меншими порівняно з іншими культурами (рис. 3.10).

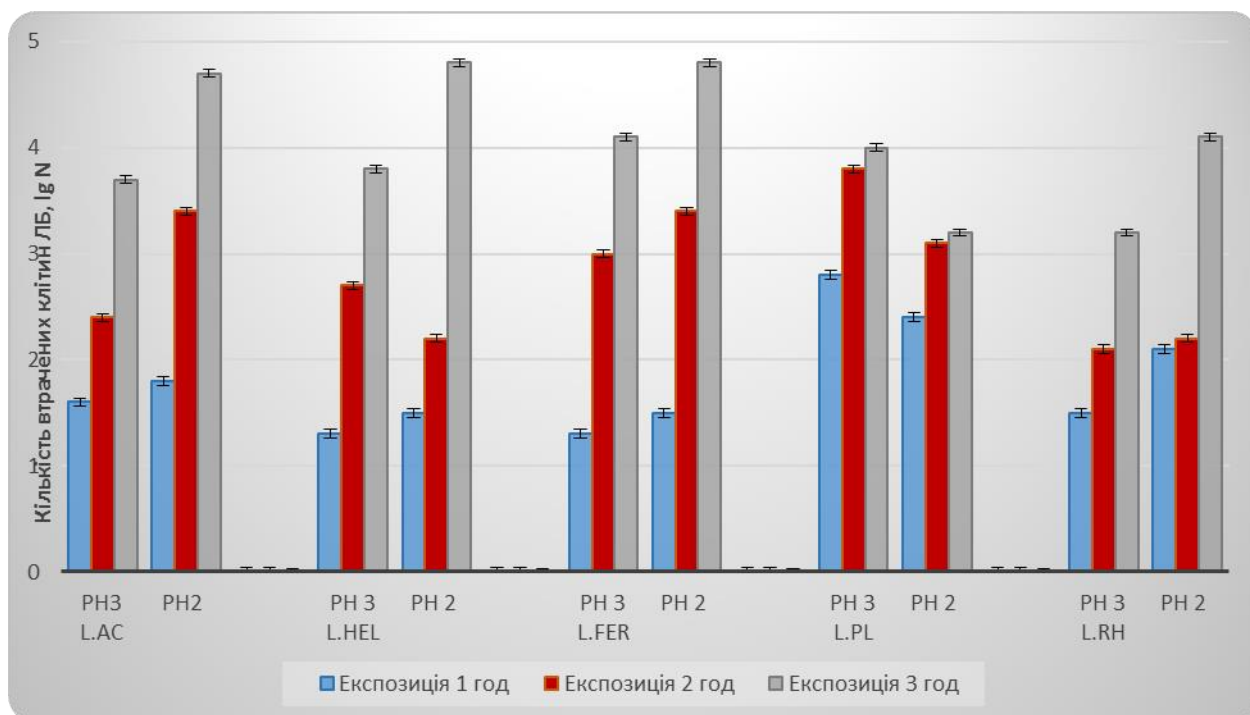


Рис. 3.10. Кількість втрачених клітин лактобактерій після експозиції за рН 2 і рН 3. (*L. ac* – *L. acidophilus* 3137, *L.hel* – *L. helveticus* 3605, *L.fer* – *L. fermentum* 3700, *L.pl* – *L. plantarum* 3207, *L.rh* – *L. rhamnosus* 3333).

Отже отримані дані свідчать, що штами отримані із біологічного матеріалу сільськогосподарських тварин є кисооторезистентними і можуть бути використані як функціональні інгредієнти у складі харчових продуктів та кормів.

Отримані результати опубліковано у роботі [52, 94].

3.3.3 Чутливість лактобацил і біфідобактерій до жовчних солей

Толерантність до жовчних солей є необхідною умовою для колонізації та метаболічної активності бактерій у тонкому кишечнику господаря. Це ознака допомагає МКБ та ББ досягти тонкої і товстої кишки і сприяти у встановленні балансу мікробіоти кишечника [51].

Дослідження щодо стійкості вилучених штамів до жовчі проводили в лабораторних умовах. Як джерело жовчних кислот використовували

препарат «Oxgall», який вносили у середовище MRS у кількості 0,3 % та 0,5 %. Встановлено, що після 2 год інкубації в середовищі MRS з 0,3% жовчних кислот, досліджені штами показали високий рівень стійкості до цього агресивного чинника – коефіцієнт життєздатності становив щонайменше 10^5 КУО /см³. За винятком одного штаму *L. fermentum* 3700, чисельність популяції якого знижувалася до 10^3 КУО/см³ (рис.3.11)

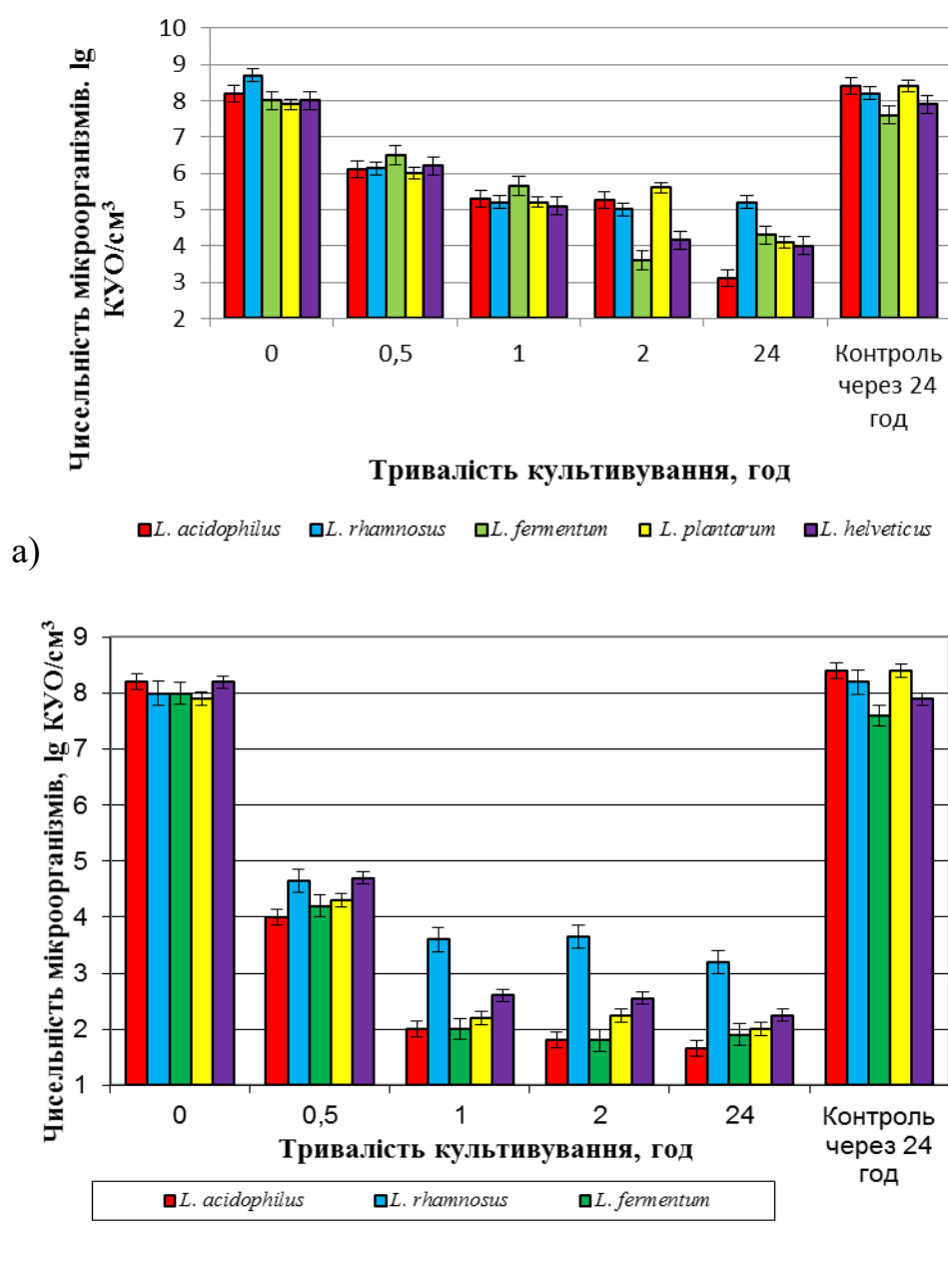
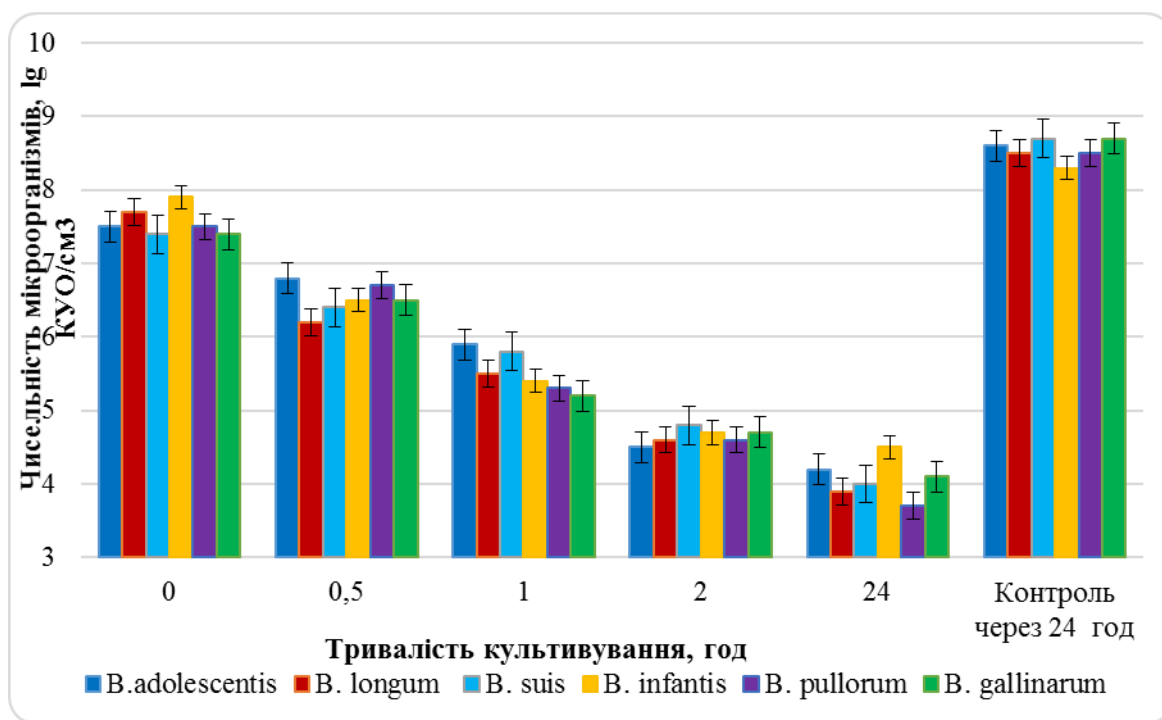


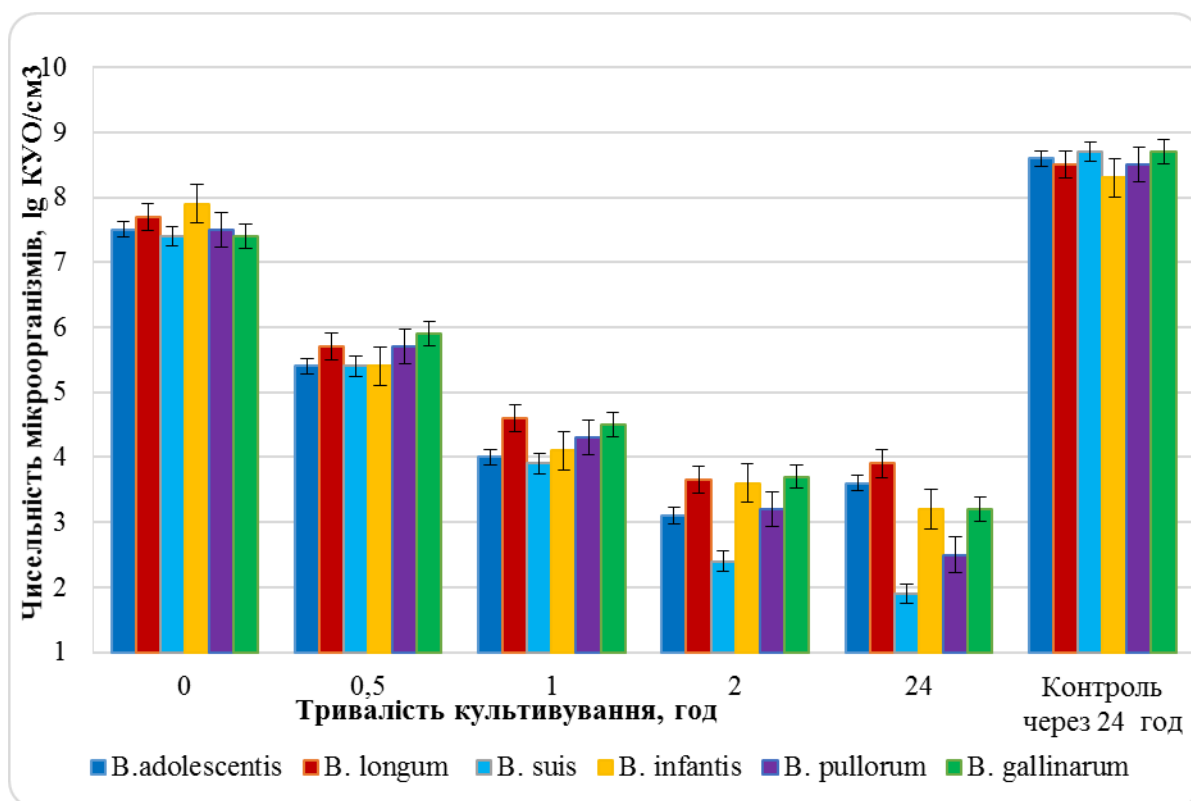
Рис. 3.11. Стійкість молочнокислих бактерій до жовчних солей а) 0,3 % жовчних солей; б) 0,5 % жовчних солей

Збільшення концентрації жовчних кислот негативно позначилося на життєздатності дослідних штамів лактобацил. Вже через 0,5 год було втрачено близько половини популяції кожного штаму, а на 24 години експозиції чисельність клітин бактерій зменшилась на 6-5 порядків і перебувала в діапазоні $10^2 - 10^3$ КУО/см³. Найстійкішим до негативного впливу жовчних кислот виявився штам *L. rhamnosus* 3333, втрати якого були найменшими. (рис. 3.11, б).

На відміну від досліджених молочнокислих бактерій, штами біфідобактерій, взяті до цих дослідів, показали вищий рівень стійкості до жовчних кислот (рис 3.12).



а)



б)

Рис. 3.12 Стійкість біфідобактерій до жовчних солей: а) - 0,3% жовчних солей б) - 0,5% жовчних солей

Отримані закономірності є характерними для біфідобактерій виділених із ШКТ і узгоджуються з літературними даними, які свідчать проте, що стійкість до дії жовчних кислот спостерігається переважно у бактерій, виділених із ШКТ ссавців, і може не проявлятися у штамів, виділених із інших джерел. Це пояснюється тим, що наявність жовчних кислот у середовищі існування є природним для штамів молочнокислих бактерій і біфідобактерій – представників шлунково-кишкового тракту ссавців [94].

Отже досліджені штами МКБ та біфідобактерій встановили високу стійкість до низьких значень рН і жовчних солей, що сприяє їх виживанню у верхніх відділах ШКТ. Це є бажаними для промислового використання пробіотичних штамів як функціональних компонентів харчових продуктів та пробіотиків.

3.3.4 Чутливість лактобацил і біфідобактерій до антимікробних препаратів

Застосування антибіотиків та інших хіміотерапевтичних препаратів для лікування шлунково-кишкових розладів у тварин призводить до селекції й циркуляції патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів з підвищеною стійкістю щодо антибіотиків, та до появи вторинних дисбактеріозів [384].

Стійкість пробіотичних мікроорганізмів до антибіотиків вважається небажаною властивістю, особливо коли вона кодується позахромосомними генетичним матеріалом, через небезпеку передачі маркера антибіотикостійкості патогенам. Нами біло перевірено чутливість вилучених штамів біфідобактерій і лактобацил до 27 антибіотиків, що належать до 13 груп антимікробних речовин (пеніциліни, цефалоспорини, карбапеніми, аміноглікозиди, тетрацикліни, азаліди, лінкозаміни, поліміксини, фторхінололи тощо). Результати дослідження стійкості до антибіотиків досліджуваних штамів наведено в таблиці 3.6.

Залежно від діаметра зони пригнічення росту мікроорганізми поділяють на резистентні, помірно резистентні та чутливі. Розмір зони затримки росту залежно від стійкості штаму до антибіотиків: 1 — резистентний ($d \geq 20$ мм); 2 — помірно резистентний ($10 \leq d < 20$ мм); 3 — чутливий ($d < 10$ мм) [49].

Таблиця 3.6

Дослідження стійкості штамів до антибіотиків

№	Антибіотики	Штами/зони пригнічення росту, мм											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
		Група цефалоспоринів											
1	Цефтриаксон	16,4±0,2	8±0,28	22±0,4	28±0,5	30±1,2	22±0,5	18±0,8	14±0,6	18±0,7	24±1,2	12±0,8	18±1,0
2	Цефазолін	0	7±1,2	8±1,2	22±0,9	20±2,0	15±1,5	18±0,7	0	0	0	10±0,8	8±0,4
3	Цефтнофур	0	15±0,7	12±1,8	33±0,8	32,6±1,7	15,5±0,9	17±1,2	0	11±0,7	20±1,5	0	0
4	Цефепим	0	0	10±0,9	9,7±0,8	14±1,2	0	12±1,2	0	14±1,5	20±0,9	0	11±1,7
5	Цефамексин	0	13,5±0,8	16±1,4	16±1,3	16±1,1	10±0,7	13±0,6	10±0,8	0	20±2,3	0	12±2,0
6	Цефоперазон	20±1,52	16±	0	0	11±2,2	12±1,5	20±1,8	14±0,8	0	18±2	10±0,9	0
		Група аміноглікозидів											
7	Гентаміцин	12±1,5	0	0	14±1,0	0	14±0,9	12±0,9	0	0	10±1,0	0	0
8	Стрептоміцин	14±0,9	18±1,5	14±1,2	18±1,6	17,5±1,3	8±0,6	23±1,8	16±1,3	14,8±0,4	10±1,0	14,3±1,2	18±1,5
9	Амікацин	10,3±0,4	14,5±0,8	0	0	0	0	8±0,6	0	0	0	18,6±0,7	12±1,9

Продовження табл. 3.6

1 0	Неоміцин	8,5± 0,8	11,8± 0,4	0	0	14,7± 0,4	0	10,4± 0,4	0	0	10±0,3	6,5±0, 3	0
1 1	Канаміцин	7±0,76	13± 1,0	15,6± 1,2	13,5± 1,3	15± 1,5	14,7± 1,3	17,6± 0,7	0	0	8,8±1,0 7	10,4± 0,3	8,6± 0,8
Ряд фторхінолів													
1 2	Цефпрофлоксацин	15±0,7	8±0,5	17,5± 0,5	17,3± 0,4	16± 0,9	20±1, 5	14,5± 0,3	16± 1,1	14,8± 0,6	15,5± 1,2	0	17±0, 5
1 3	Офлоксацин	13±2,1	0	17±1	21±1, 2	17±1, 2	14,4± 1,8	16,6± 0,6	12,6 ± 0,9	12±1, 3	13,6± 1,3	8±0,4	14,3± 1,8
Група пеніциліні													
1 4	Амоксицилін	10±0,6 6	14,4±0,2 9	18±1, 8	20,6± 0,9	17±1, 4	11,6± 1,8	13,7±0, 7	12,7 ± 0,7	15,8± 0,4	20,7± 1,7	14,4± 1,3	16,2± 0,7
1 5	Ампіцилін	12,8± 0,8	17,8± 1,3	32± 1,5	26± 0,7	24,5± 0,9	22,7± 0,7	21,4± 0,8	0	0	11,7± 0,8	12±0,9	0
Група тетрациклінів													
1 6	Доксициклін	14,4± 0,6	20±0,7	32±0, 7	26± 0,7	28±0, 9	10±0, 3	30±1,7	20± 0,9	14±1, 2	20±0,3	14,5± 1,3	15,2± 0,6
1 7	Тетрациклін	14,4± 0,2	13±1,2	22,6± 0,9	21,2± 0,8	27±0, 9	31,5± 0,9	25,6± 0,9	14,5 ± 0,5	0	21,5± 0,3	12,5± 0,8	11,5± 0,3

Продовження табл.3.6

		Група агзаміцинів												
1 8	Рифампіци н	25±0, 8	17±1,1	33±0, 9	24,6 ± 0,3	30,3± 0,7	20±0, 8	24,5± 0,3	8±0,3	8±0,16	26±1,0	8±0,3	0	
		Група нітрофуранів												
1 9	Фурадонін	8±0,1 6	22±1,2 5	26,6± 0,3	26± 1,0	22,4±0, 8	26,3± 0,7	25±0, 5	0	20±0,5	22±0,9	20,6± 1,1	18± 0,8	
Група карбапенемів														
2 0	Меропенем	14±0, 7	21±0,9	0	27± 0,5	22± 0,5	26±0, 6	24±0, 4	24±0,3 5	20,4±0,6 1	22,5±0,8 3	18±1,1 7	25±0,6 1	
		Група хлорамфеніколу												
2 1	Левоміцети н	20±0, 6	20±0,8	16,5± 0,9	26± 0,8	20± 0,9	21±0, 4	23±0, 7	18±0,1 6	0	23±0,7	0	0	
Підклас азалідів														
2 2	Азитроміци н	20±0,5	22±0,1	32,4± 0,8	26,6± 0,3	28±0,7	10±0,6	30±0,4	20±0,2	14,4±0,6	20±0,6	14±0,4	15±0,6	
2 3	Еритроміци н	27,5± 0,3	30±0,6	30± 0,7	28± 0,6	30±0,6	28±0,4	28,2± 0,8	10±0,1	12±0,4	20,5±1,0	8±0,11	11±0,8	

Продовження табл. 3.6

Група поліпептидів													
25	Поліміксин	0	8±0,3	0	0	10±0,51	10±0,58	0	0	0	0	8±0,5	0
Ряд лінкозаміни													
26	Лінкоміцин	25±0,5	16±0,5	25±0,5	25±0,3	12±0,5	30,8±0,6	25±0,6	20±0,6	12±0,3	20,4±0,9	10,2±0,61	13±0,6
27	Клинзаміцин	24±0,5	0	0	0	10±0,5	11±0,4	24±0,7	0	0	0	11,6±0,9	0

Примітка. 1 — *L. rhamnosus* 3333; 2 — *L. acidophilus* 3137; 3 — *L. brevis* 3900; 4 — *L. paracasei* 3800; 5 — *L. casei* 3327; 6 — *L. delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* 3520; 7 — *L. helveticus* 3605; 8 — *B. gallinarum* 4700; 9 — *B. bifidum* 4108; 10 — *B. longum* 4206; 11 — *B. infantis* 4302; 12 — *B. adolescentis* 4407.

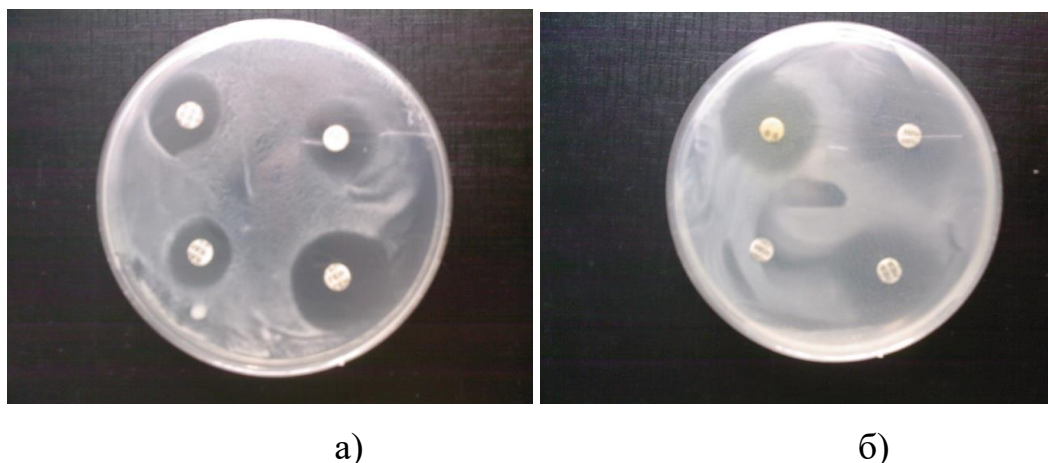


Рис. 3.13 Чутливість виділених мікроорганізмів до антибіотиків диско-дифузійним методом а) *B. gallinarum* 4700; б) *L. paracasei* 3801

Встановлено, що переважна кількість штамів молочнокислих бактерій була вразливою до дії цефалоспоринів, тетрациклінів, азалідів, лінкозамінів, хлорамфеніколу, рифампіцину – зони затримки росту сягали коливались від 20 до 30 мм. Окремі штами, навпаки, були стійкими до цих антибіотиків. Цікавим є факт, що біфідобактерії, які було залучено до цих досліджень, характеризувались вищою резистентністю до широкого спектру антибіотиків, ніж МКБ. Загалом, будь якої чіткої закономірності встановити не вдалося, що свідчить про штамоспецифічність прояву цієї властивості.

3.3.5 Адгезивна активність лактобацил і біфідобактерій

Однією із важливих властивостей пробіотичних штамів мікроорганізмів являється їх адгезія. Адгезивний процес характеризується специфічністю, що полягає у вибірковій здатності мікробів прикріплюватися до епітеліальних клітин певних органів макроорганізму. У межах одного органу або системи відмічають мозаїчність адгезії. Мікробна адгезія різна не тільки в різних тканинах, але і у різних особин одного і того ж виду, в залежності від віку, генетичних особливостей і стану здоров'я.

За сучасними уявленнями висока адгезивна здатність пробіотичних мікроорганізмів не є бажаною, оскільки існує ризик порушення гомеостазу нормофлори та її діалогу зі слизовою оболонкою кишківника. З іншого боку

для закріплення в макроорганізмі та прояву своєї функціональної активності пробіотичний мікроорганізм повинен закріпитися в кишечнику так, щоб не вплинути негативно на мікробіоценоз.

Для вивчення адгезивних властивостей мікроорганізмів найбільш зручна модель, у якій використовуються еритроцити тварин або людини як клітини макроорганізму. Універсальність цієї моделі полягає в тому, що еритроцити мають на своїй поверхні глікофорін речовину, ідентичну глікокаколісу епітеліальних клітин, на якому розташовані рецептори для адгезії мікробів.

Для дослідження адгезивної здатності вилучених штамів молочнокислих та біфідобактерій *in vitro* було застосовано модельну систему з еритроцитами з наступною реєстрацією процесу за допомоги світлового мікроскопу.

У дослідах використовували 24-годинну культуру кожного штаму, вирощену на рідких середовищах: МРС для лактобактерій та Блаурок для біфідобактерій. Адгезивні властивості молочнокислих бактерій оцінювали за наступними показниками: середній показник адгезії (СПА), коефіцієнт участі еритроцитів в адгезивному процесі (К) та індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ) [151].

На рисунку 3.14 демонструється факт закріплення клітин лактобактерій на поверхні еритроциту. Мікроорганізми забарвлені у синій колір, а еритроцити – у світло коричневий.

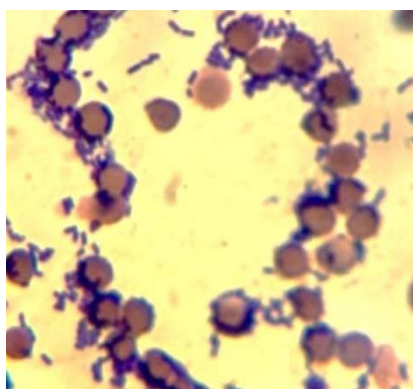


Рис. 3.14 - Адгезія *L. paracasei* 3801 еритроцитах птиці (x90)

Як свідчать отримані дані за показником ІАМ усі перевірені штами *L. rhamnosus* 3333, *L. helveticus* 3605 є високоадгезивні за показниками адгезивності і вони відносяться до високоадгезивних – ІАМ вище 4,0. Виняток складає лише 1 штам *L. plantarum* 3207, ІАМ якого дорівнює 3,38, що характеризує його як штам з високою адгезивністю. За показником СПА штами слід віднести до культур з середнім

рівнем адгезивності за винятком двох штамів *L. rhamnosus* і 2 штамів *L. paracasei ssp.paracasei*. Коефіцієнт участі еритроцитів в адгезивному процесі (К) – відсоток еритроцитів, що мають на своїй поверхні адгезовані мікроорганізми – підтверджує отриману за ІАМ і СПА характеристику (табл. 3.7 -3.8).

Що стосується оцінки адгезивної здатності біфідобактерій, у цій модельній системі вони виявляли високу спорідненість до еритроцитів, про що свідчать показники ІАМ та К.

Таблиця 3.7

Показники адгезивності штамів лактобактерій

Штами	Кількість штамів	Показники адгезивності		
		К, %	СПА	ІАМ
<i>L. plantarum</i> 3207	2	78 - 81	2,32 - 3,11	3,38 - 4,37
<i>L. fermentum</i> 3700	1	80-81	2,84	5,65
<i>L. rhamnosus</i> 3333	2	92- 93	4,36 - 4,89	5,29 - 6,69
<i>L. casei</i> 3223	2	78 - 81	2,44 - 2,96	4,28 - 4,23
<i>L. helveticus</i> 3605	1	84,32	3,45	5,36
<i>L. delbrueckii ssp bulgaricus</i> 3520	1	82	3,25	5,21
<i>L. lactis</i> 3400	1	81	3,14	5,15
<i>L.paracasei sp.paracasei</i> 3800	3	85 - 92	3,42 - 4,25	5,24 - 5,87

Рівень СПА у всіх штамів біфідобактерій перевищував 4,0 за винятком штамів *B. gallinarum* 4700 і *B. infantis* 4302, для яких цей показник був 3,92 і 2,92 відповідно. Отже ці штами слід розглядати як середньоадгезивні.

Таблиця 3.8

Показники адгезивності штамів біфідобактерій

Штами	Показники адгезивності		
	<i>K</i> , %	<i>СПА</i>	<i>IAM</i>
<i>B. adolescentis</i> 4407	94,25±1,44	5,21±0,56	5,61±0,58
<i>B. longum</i> 4206	90,51±1,46	4,52±0,44	5,31±0,95
<i>B. suis</i> 4500	92,34±3,09	4,86±0,7	5,26±0,7
<i>B. infantis</i> 4302	82,11±2,48	2,92±0,43	3,34±0,16
<i>B. pullorum</i> 4601	93,02±2,44	4,54±0,41	4,9±0,4
<i>B. gallinarum</i> 4700	88,35±2,86	3,92±0,31	4,43±0,29

Примітка: * - похибка досліду не перевищує різниця достовірної $p < 0,05$.

Адгезивна активність серед мікроорганізмів проявилась по-різному і в залежності від виду еритроцитів (таблиця 3.9).

Таблиця 3.9

Результати експериментальних досліджень прояви мікроорганізмами адгезивних властивостей

Назва культури	Кількість штамів	Еритроцити-вид тварин		
		Поросята	Птиця	Телята
		СПА	СПА	СПА
<i>L. plantarum</i> 3207	2	2,34-4,89	0,67-4,45	3,23-4,56
<i>L. rhamnosus</i> 3333	2	1,75-3,56	2,45-3,25	1,43-3,23
<i>L. paracasei</i> 3801	3	3,05-4,33	3,87-4,66	3,22-4,85
<i>B. adolescentis</i> 4407	3	2,03-3,25	0,87-2,58	3,03-4,11
<i>B. longum</i> 4206	5	1,34-3,14	0,79-2,13	2,56-4,63
<i>B. suis</i> 4500	3	3,42 - 4,25	1,15-3,22	1,24-4,31
<i>B. infantis</i> 4302	7	3,36-3,98	2,49-4,43	3,23-5,67
<i>B. pullorum</i> 4601	2	0,54-2,11	4,56-5,17	0,94-1,65
<i>B. gallinarum</i> 4700	2	1,28-2,09	6,02	1,32-2,09

В ході проведених досліджень було встановлено, що адгезивні властивості мікроорганізмів, виділених від телят, поросят та птиці, мають відмінності. Так СПА лактобактерій виділених, від телят, мали вищі показники до еритроцитів теляти, ніж до еритроцитів птиці. СПА лактобактерій, виділених від телят, до еритроцитів бика склав 3,23-4,85, що свідчить про високу адгезивність досліджуваних штамів. Така тенденція прослідковувалася для всієї мікробіоти. При цьому слід відмітити високу ступінь кореляційного зв'язку між адгезією на еритроцитах людини та адгезією на еритроцитах тварин. Мікробіота кишківника тварин проявляє більш виражені адгезивні властивості до еритроцитів тієї тварини з якої її було вилучено, ніж до еритроцитів людини, що в свою чергу свідчить про пріоритет дослідження адгезивних властивостей, мікроорганізмів відповідно до еритроцитів тієї тварини з якої її було вилучено

Отримані результати опубліковано у роботі [100, 83].

Найактивніші штами захищені патентами [101, 103] (Додаток Е. 2; Е. 4)

В результаті проведеної роботи було удосконалено методику вилучення лакто- та біфідобактерій за критеріями оцінки пробіотичних мікроорганізмів.

ФАО/ВОЗ у 2002 році було розроблено рекомендації з оцінки пробіотичних штамів, що застосовуються у виробництві харчових продуктів, в яких окреслено критерії для характеристики пробіотичних штамів та системний підхід до науково обґрунтованої оцінки ступеню ризику застосування пробіотиків у харчових продуктах. Ці вимоги носять загальний рекомендаційний характер, тому потребують певної адаптації до кожної окремої групи продуктів. Сьогодні існує ряд нагальних питань, які потребують свого вирішення, зокрема:

- визначення чіткіших критеріїв оцінки функціональної активності штамів, пошук штамів-пробіотиків, глибоке дослідження їхніх біологічних властивостей з метою оцінки функціонального впливу на організм споживача;
- необхідність теоретичного обґрунтування виду функціональних продуктів з метою забезпечення бажаного впливу на організм споживача та розробка технологій таких продуктів.

Наразі в Україні не існує керівних вказівок і належної методичної бази щодо пошуку та селекції пробіотичних штамів і адекватних критеріїв оцінювання функціональної ефективності як власне штамів пробіотиків, так і функціональних продуктів з їхнім використанням.

Вихідним елементом є *штам* і його атрибутами (джерело походження, таксономічний статус та депонування).

Джерело пробіотичного штаму, залежить від того для кого він призначається. Так, коли планується створити харчовий функціональний продукт штами вилучають із організму здорових людей, якщо планується застосовувати його у кормовому продукті – від здорових тварин. Такий підхід є виправданим, оскільки існує певна біологічна спорідненість між макро- та мікроорганізмом.

Ідентифікація на рівні роду, виду, штаму. Насьогодні визнано, що оздоровча дія пробіотичних штамів є штамоспецифічною, тому надзвичайно важливим є точність визначення його таксономічного положення для того, щоб узаконити характерну для цього штаму оздоровчу дію. Водночас таксономічний статус певною мірою свідчить про безпечність штаму.

Наприклад, приналежність до біфідобактерій свідчить про те, що штам є безпечним (група IV патогенності, або GRAS), а для молочнокислих бактерій роду *Enterococcus*, серед представників якого є патогенні штами, – необхідні додаткові дослідження.

Перспективною групою мікроорганізмів у створенні пробіотичного препарату є бактерії роду *Lactobacillus*, які мають статус “Generally recognized as safe” та “Qualified presumption of safety”, тобто їхнє використання є такожабсолютно безпечним.

Вид штаму має бути встановленим загальновизнаними науково обґрунтованими методами за фенотиповими та генотиповими ознаками. Метод ДНК-ДНК гібридизації є референтним методом для визначення виду, альтернативною заміною йому слугує метод ПЛР. Для ідентифікації до виду молочнокислих, біфідо- та пропіоновокислих бактерій ефективним

ідентифікаційним дослідженням є вивчення сахаролітичної активності (спектру зброджуваних цукрів та кінцевих продуктів бродіння). Для визначення штаму застосовують високоточний метод пульселектрофорезу в поліакриламідному гелі, метод ПЛР – менш ефективний через наявність плазмід. Штами мають бути задекларовані у визнаних на міжнародному рівні колекціях культур. Назва штамів повинна відповідати сучасній номенклатурі мікроорганізмів.

Наступним кроком є дослідження *функціональних характеристик* штаму, яка дозволяє дослідити його пробітичний потенціал та можливий механізм позитивного впливу на організм, технологічні характеристики та безпечність.

Критеріями оцінки функціональної активності слугують:

- стійкість до кислотності шлунку,
- стійкість жовчних кислот,
- адгезивна здатність,
- антимікробна активність,
- здатність до гідролізу жовчних кислот,
- збереження функціональної активності до технологічних операцій

та зберігання

Попередня оцінка *безпечності штаму in vitro* та *in vivo* оцінюється за такими критеріями як:

- визначення профілю антибіотикорезистентності та наявності мобільних елементів антибіотикостійкості;
- продукування шкідливих метаболітів (Д-лактатів, деконьюгованих жовчних кислот, ентеротоксинів, літичних ферментів тощо);

Заборонено використовувати як пробіотики штами, які продукують токсини і здатні до передачі факторів стійкості до антибіотиків.

Оцінка промислового *потенціалу штамів* здійснюється за такими властивостями:

- здатність до розвитку у харчовій основі;
- аеротолерантність;
- тип бродіння;
- спектр та рівень ферментативної активності;
- забезпечення смако-ароматичної гами продукту;
- фагостійкість;
- стійкість до технологічних операцій;
- стабільність популяції.

Перевірка безпеки штаму/ продукту відповідно до рекомендацій ФАО/ВОЗ здійснюється за рекомендованим ФАО/ВОЗ трирівневим алгоритмом. I фаза доклінічні випробовування – в лабораторних умовах як зазначено вище, II фаза клінічних випробовування та III – контроль безпеки на популяційному рівні. Встановлення ефективності повинно проводитися незалежною тристоронньою групою кваліфікованих експертів.

Висновки до розділу 3

1. Дослідження лактофлори організму сільськогосподарських тварин свідчать, що у поросят та телят переважали лактобактерії видів *L. plantarum* та *L. acidophilum*, які склали по 21 % від всіх вивчених нами штамів, другу групу склали штами видів *L. rhamnosus* та *L. paracasei* (15,8%). До третьої віднесено вид *L. casei* (10,5%), які за частотою їх виділення у птиці були четвертими. Лактобактерії четвертої групи були представлені виділеними з кишківника телят видами *L. helveticus* та *L. delbrueckii ssp bulgaricus* (7,9%) але не були виявлені нами у поросят та птиці. Далі йшли штами, віднесені до видів та *L. casei* (5,3 %), *L. fermentum* (2,6 %) та *L. lactis* - (2,6%)

2. У поросят переважали біфідобактерії видів *B. longum* (13,8%) і *B. bifidum* (10,3%); у телят - види *B. infantis* (17,2 %), *B. bifidum* (10,3%), *B. longum* (6,9%) та *B. adolescentis* (6,9 %). При цьому біфідобактерії виду *B. infantis* були

виявлені у телят, бактерії видів *B. suis* –були виділені лише від поросят, а *B. pullorum* та *B. gallinarum* - лише від птиці.

3. У результаті цілеспрямованого пошуку з організму сільськогосподарських тварин та птиці було вилучено 29 штамів біфідобактерій, що належали до видів *B. infantis*, *B. suis*, *B. gallinarum*, *B. pullorum*, *B. bifidum*, *B. longum* та *B. adolescentis* і 38 штамів лактобацил наступних видів *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. helveticus*, *L. delbrueckii ssp bulgaricus* та *L. lactis* (

4. ок Б. 1-Б.9).

5. Ідентифікацію вилучених штамів проведено за культурально-морфологічними і фізіолого-біохімічними ознаками; таксономічну приналежність окремих штамів підтверджено молекулярно-генетичним методом.

6. Проведено оцінку технологічних властивостей культур, що дозволило визнати їх як промислово перспективні.

РОЗДІЛ 4. РОЗРОБЛЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЙ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ДОБАВОК ДЛЯ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН

Успішний розвиток тваринництва залежить від вирощування здорового молодняка, та його збереження, який поєднував би високу продуктивність зі стійкістю організму до захворювань. На тлі порушення нормальної реактивності і ослаблення захисних властивостей організму виникають масові шлунково-кишкові захворювання новонароджених тварин, особливо телят. Серед них, часто діагностують колібактеріоз телят, який відноситься до числа найбільш поширених інфекційних хвороб молодняка і реєструється у всіх розвинених країнах світу, в тому числі в господарствах України. Зниження захворюваності та попередження загибелі народженого молодняка є одним з головних завдань, яке ставляють перед собою фахівці - ветеринари. ШКЗ найбільш широко розповсюджені, завдають значних економічних збитків і викликають великий відхід телят, який сягає в країнах світу 10-15%.

Одним із шляхів підвищення природної резистентності організму тварин в період вирощування і відгодівлі є повноцінна годівля. Зниження витрати корму на одиницю продукції, краще використання поживних речовин досягається, в основному, за рахунок збагачення раціонів біологічно активними речовинами, в тому числі вітамінами, мікроелементами, амінокислотами та іншими нутрієнтами. Пошук нових більш ефективних і в той же час біологічно та екологічно безпечних речовин і розробка біотехнологічних прийомів їх застосування, дозволяє підвищувати життєздатність організму фізіологічно незрілих сільськогосподарських тварин, керувати їх імунологічними та травними функціями [160].

Залучення пробіотиків у технологію вирощування молодняка - найбільш сучасний спосіб профілактики шлункових хвороб, заснований на екологічно безпечних механізмах підтримки високого рівня колонізаційної резистентності кишечника. Механізм дії пробіотиків на відміну від антибіотиків спрямований

не на знищення, а на конкурентне витіснення небажаних бактерій зі складу кишкового мікробіотику [229].

Пробіотики є не тільки ефективними лікувально-профілактичними засобами, а й надають ростостимулювальну дію. Вони фізіологічні за своєю дією, є екологічно чистими препаратами, нешкідливі для тварин, технологічні для групового застосування [134].

У даній роботі планувалося розробити біопрепарати для молодняку сільськогосподарських тварин – телят, поросят та птиці.

Беручи до уваги дані, нормального біоценозу цих видів тварин вважали за доцільне розробити полікомпонентні препарати на основі молочнокислих та біфідобактерій. При цьому з молочнокислих бактерій відібрали вид *Lb. acidophilus* 3137, який одним з перших заселяє кишечник новонароджених телят та поросят і знаходиться в ньому постійно та *L. paracasei* 3801, *L. casei* 3223, *L. rhamnosus* 3333, *L. plantarum* 3207, *L. helveticus* 3605, *L. delbrueckii ssp bulgaricus* 3520. Із біфідобактерій було взято виділені нами із кишечника: молочних телят штами *B. longum* 4206, *B. infantis* 4302, *B. adolescentis* 4407; поросят - *B. animalis* 4506 і *B. suis* 4500; та птиці - *B. pullorum* 4601, *B. gallinarum* 4700.

4.1 Дослідження антагоністичної активності штамів-пробіотиків до патогенних польових ізолятів

Розробка ефективних і сучасних заходів та відповідних препаратів на основі пробіотиків, для профілактики та лікування шлунково-кишкових захворювань тварин вимагає об'єктивної оцінки антагоністичних взаємовідносин нормофлори ШКТ та патогенної мікробіоти.

Тест-культури патогенних мікроорганізмів - польові ізоляти збудників з патогенного матеріалу поросят, різних свинарських господарств України: *Escherichia coli* (шт. К-99, шт. 41987), *Salmonella cholerae suis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Clostridium perfringens*. Усі ізоляти були патогенними для мишей.

Результати проведених досліджень свідчать, що всі дослідні штами проявляли антагоністичну активність щодо *E. coli* (шт. К-99, шт. 41987), *S. cholerae suis*, *S. aureus*, *E. faecalis*., *C. perfringens*. Встановлено, що досліджувані штами лакто- і біфідобактерій мали виражені відмінності за здатністю пригнічувати ріст патогенних мікроорганізмів (рис 4.1). З рис. 4.1 видно, що ступінь активності в різних видів мікроорганізмів різна: поряд зі стійкими зустрічаються як малочутливі так і чутливі. Діапазон середніх значень зон затримки росту патогенних ізолятів коливався від 12,2 мм до 28,3 мм.

Серед проаналізованих штамів найнижчу антагоністичну активність спостерігали для *L. paracasei* 3800 по відношенні до *S. aureus* – зона затримки росту становила лише 12,2 мм. Найбільшою антагоністичною активністю по відношенню до *Salmonella cholerae suis* володів *L. paracasei* 3800 з зоною затримки росту 28,3 мм.

Біфідобактерії виявилися менш активними антагоністами щодо до всіх взятих в експеримент польових ізолятів патогенних мікроорганізмів. Найбільшу антагоністичну активність виявив штам *B. infantis* 4302 стосовно представників роду *E. coli*, шт. К-99 (23,3 мм)., а також *S. aureus* (21,2 мм).

Щодо *C. perfringens* біфідобактерії проявили порівняно не високі значення антагоністичної активності, хоча для всіх ізолятів спостерігалися достатні зони пригнічення росту в межах 12-17 мм. Як видно з отриманих результатів, найчутливішими до згубної дії всіх досліджених штамів молочнокислих, біфідобактерій виявилися тест-культури роду *S. cholerae suis*. У присутності штамів *Bifidobacterium* зона затримки росту становила 16-17 мм, а для лактобактерій 16-28 мм. Найактивнішим виявився штам *L. paracasei* 3800, зона затримки росту становить 28,2 мм.

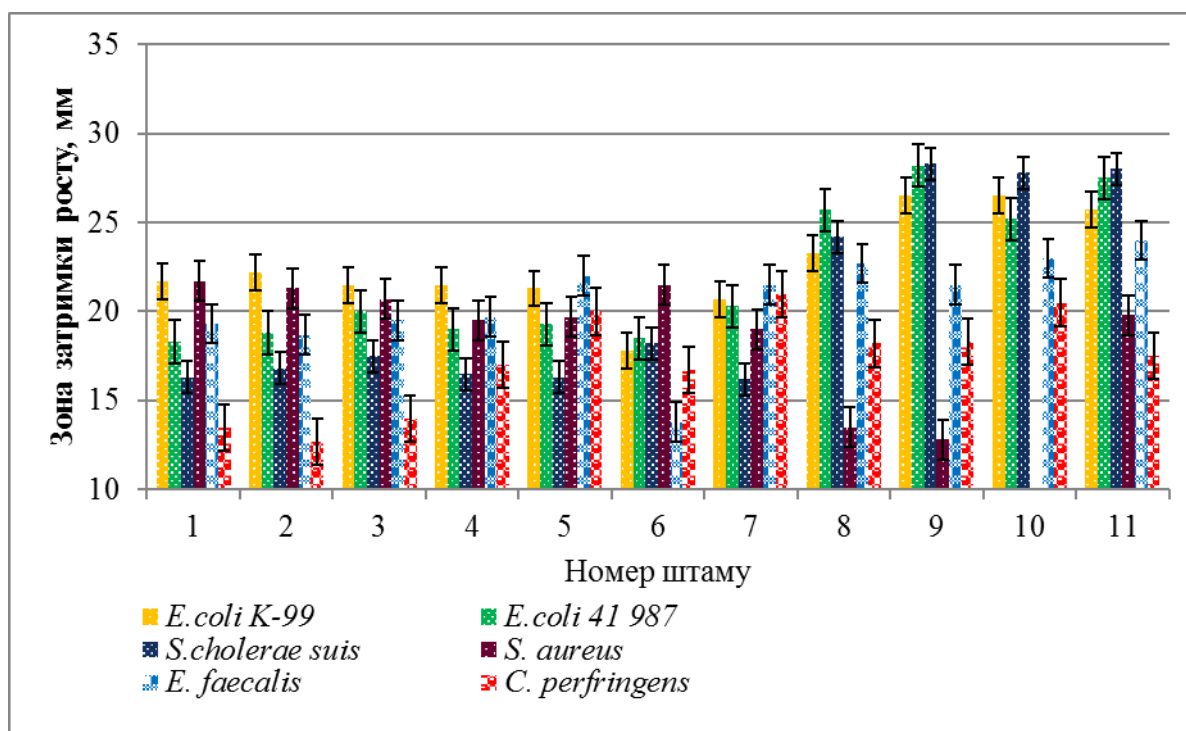


Рис.4. 1. Гістограма зон затримки росту окремих патогенних ізолятів, при дослідженні антагоністичної активності пробіотичних штамів. 1.- *B. adolescentis* 4407; 2.- *B. infantis* 4302; 3- *B. longum* 4206; 4- *B. suis* 4500; 5- *L. acidophilus* 3137; 6- *L. casei* 3223; 7- *L. delbrueckii ssp bulgaricus* 3620; 8- *L. rhamnosus* 3333; 9- *L. paracasei* 3800; 10 - *L. helveticus* 3605; 11- *L. plantarum* 3207.

Штами *L. paracasei* 3800, *L. helveticus* 3605, *L. plantarum* 3207, та *B. suis* 4500 є активними антагоністами по відношенню до всіх досліджених патогенних мікроорганізмів (зона затримки росту становить більше 15 мм).

4.2 Стійкість до кокцидіостатиків штамів-пробіотиків

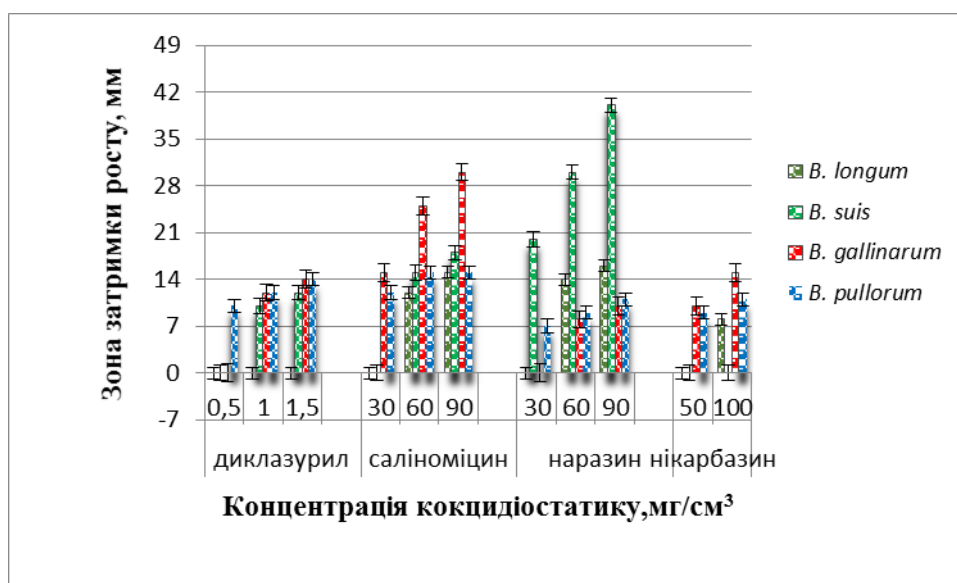
Для створення препарату для птиці додатково проаналізували чутливість мікроорганізмів до кокцидіостатиків.

Сьогодні кокцидіостатики - це антибіотики, алкалоїди, виділені з рослин, похідні різних хімічних груп і т. д., використовувані для пригнічення життєдіяльності або знищення ендогенних стадій еймерій.

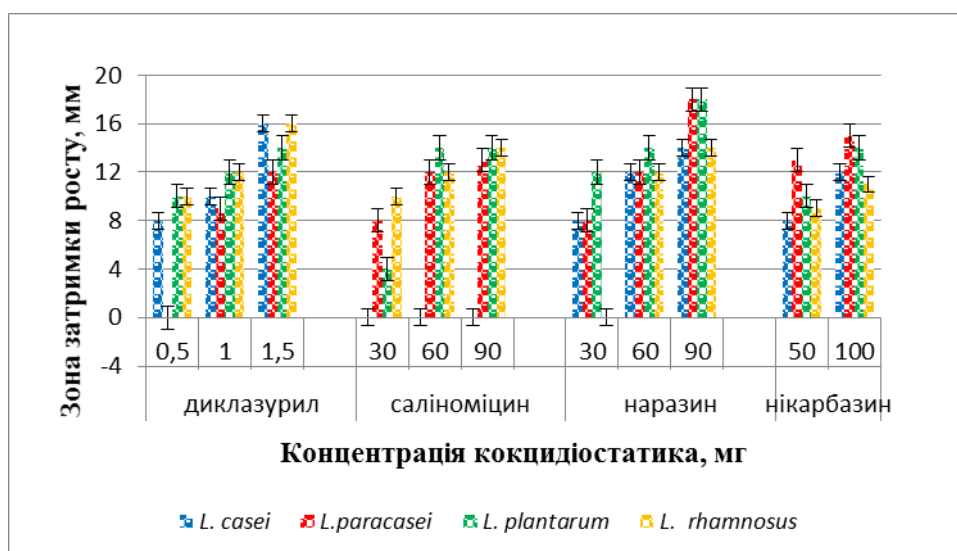
Для розрахунку дози кокцидіостатиків орієнтувались на уживані концентрації препаратів у кормі (мг/кг корма) для лікування та профілактики кокцидіозів птиці [53].

Було встановлено, що до диклазурину адаптувалися 60 % та 40 %, до саліноміцину та наразину– 50 % та 30 %, до нікарбазину– 40 % та 25 % ізолятів молочнокислих мікроорганізмів та біфідобактерій відповідно.

Малочутливими до кокцидіостатиків були як біфідо- так і лактобактерії (рис.4.2).



а)



б)

Рис. 4.2. Зона затримки росту а) біфідобактерій; б) молочнокислі бактерій

Залежно від діаметра зони затримки росту мікроорганізми поділяються на чутливі ($d \geq 20$ мм); помірно чутливі ($10 \leq d < 20$ мм); та резистентні ($d < 10$ мм)

Диклазурин у концентрації 0,5 мг/см³ не впливав на життєдіяльність усіх взятих до дослідів мікроорганізмів. Збільшення концентрації диклазурину до 1,0 мг/см³ не спричиняло згубної дії на культури *B. suis*, *L. casei* та *L. paracasei*, а для штамів *L. acidophilus* 3137 та *B. longum* 4206- до концентрації 1,5 мг/см³.

Диклазурил пригнічував ріст *B. suis* 4500 за концентрації – 1,5 мг/см³, *B. gallinarum* 4700, *L. plantarum* 3207, *L. rhamnosus* 3333 та *B. pullorum* 4601– 1,0 мг/см³, *L. paracasei* 3800– 1,5 мг/см³ [53].

Резистентними до кокцидіостатиків виявилися штами *B. longum* 4206, *B. suis* 4500 та *L. acidophilus* 3137. Загалом, штам *B. longum* 4206 був резистентним до диклазурилу за концентрації 0,5 -1,0 мг/см³, наразину - 30 мг/см³, саліноміцину - 30 мг/см³ та нікарбазіну - 50-100 мг/см³, а до решти кокцидіостатиків помірно чутливим, зона пригнічення росту становить 12-16 мм. Штам *B. suis* виявився чутливим до наразину за концентрації від 60 мг/см³ слабо резистентним до саліноміцину за концентрації 60-90 мг/см³ та диклазурилу – 1,5 мг/см³ [53].

Штами *B. pullorum* 4601 та *B. gallinarum* 4700 за чутливістю до кокцидіостатиків були подібними. До наразину різної концентрації були резистентними, помірно резистентними до диклазурилу за концентрації 1,0 та 1,5 мг/см³, та саліноміцину за найнижчої концентрації. Збільшення концентрації сприяло збільшенню зони затримки до 21 мм та 30 мм відповідно [53].

За отриманими даними МКБ були резистентними та помірно чутливими до всіх досліджених кокцидіостатиків.

Найбільш стійким до кокцидіостатиків виявився штам *L. acidophilus* 3137. За різної концентрації кокцидіостатиків він був резистентним, зона затримки росту становила 0-16 мм, лише саліноміцин пригнічував ріст культури. В залежності від концентрації зона пригнічення збільшувалась від 10 мм до 20 мм.

Штами *L. casei* 3223 та *L. paracasei* 3800 були не стійкими до диклазурилу та саліноміцину з зоною затримки росту від 0 мм до 12 мм. Решта штамів МКБ були помірно чутливими до всіх препаратів.

Аналізуючи отримані результати дослідження стійкості різних видів мікроорганізмів до різних груп кокцидіостатиків, які використовуються у ветеринарній практиці для профілактики кокцидіозу, можна сказати, що штам *L. acidophilus* 3137 та *B. longum* 4206 виявились найстійкішими до кокцидіостатиків. Штами лактобактерій були резистентними до саліноміцину та наразину і розрізнялися за стійкістю до всіх інших препаратів. Усі досліджені штам *біфідобактерій* були резистентними до групи диклазурилу та нікарбазину.

4.3 Створення бактеріальних композицій

Молочнокислі та біфідобактерії були активними анагоністами (зона затримки росту від 17 мм до 22 мм).

Відібрані для роботи штам *МКБ* і *ББ* були стійкими до жовчі та хлориду натрію. В дослідях *in vitro* вони розвивалися в присутності 40 % жовчі, 0,4 % фенолу і 5- 7 % хлориду натрію (табл. 4.1) [54].

У сучасній ветеринарії для профілактики та лікування різноманітних захворювань шлунково-кишкового тракту свійських тварин та птиці застосовують препарати, що містять живі культури мікроорганізмів: лактобактерії, кишкову паличку, бацили, біфідобактерії та ін. Дія таких препаратів обумовлена їх здатністю тією чи іншою мірою сприяти нормалізації мікробіоти в організмі тварин та інгібувати розвиток патогенних мікроорганізмів, що особливо актуально у профілактиці та лікуванні молодняку свійських тварин, оскільки забезпечує зменшення втрат поголів'я та підвищення стійкості до хвороб різноманітної етіології.

Переважає більшість існуючих сьогодні пробіотичних препаратів містить у своєму складі представників анаеробної нормофлори: лактобактерії (Ацидофілія, ПАБК, СБА) та біфідобактерії [322].

Саме тому, створення активних препаратів здійснювали зі застосуванням відібраних за бажаними ознаками мікроорганізмів зазначених груп.

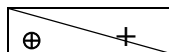
Було проведено визначення типу взаємовідносини між штамами лакто- та біфідобактерій. Для цього було відібрано 9 штамів роду *Lactobacillus* та 8 штами роду *Bifidobacterium*. Із вказаних штамів було створено 72 двокомпонентні комбінації (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

Результати спільного культивування штамів

ББ МКБ	<i>B. longum</i>		<i>B. infantis</i>		<i>B. pullorum</i>	<i>B. gallinarum</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>B. animalis</i>
	4500	4206	4302	4300	4601	4700	4407	4407
<i>L. paracasei</i> 3800	⊕ ⊕	+ -	- +	⊕ ⊕	- +	⊕ ⊕	+ ⊕	⊕ ⊕
<i>L. paracasei</i> 3801	+ -	⊕ +	+ -	⊕ ⊕	⊕ ⊕	+ -	⊕ ⊕	- +
<i>L. casei</i> 3323	⊕ ⊕	+ ⊕	⊕ ⊕	+ -	⊕ ⊕	⊕ +	⊕ ⊕	+ -
<i>L. plantarum</i> 3204	+ +	⊕ ⊕	⊕ ⊕	- +	⊕ +	⊕ ⊕	- +	⊕ ⊕
<i>L. plantarum</i> 3207	⊕ ⊕	- -	+ -	⊕ ⊕	⊕ ⊕	+ +	+ +	+ -
<i>L. rhamnosus</i> 3333	⊕ ⊕	+ ⊕	⊕ ⊕	+ ⊕	⊕ ⊕	⊕ ⊕	- -	+ ⊕
<i>L. acidophilus</i> 3137	+ -	⊕ ⊕	⊕ ⊕	+ +	+ +	+ +	⊕ ⊕	⊕ ⊕
<i>L. helveticus</i> 3605	- -	⊕ ⊕	+ -	⊕ ⊕	+ ⊕	⊕ ⊕	+ ⊕	+ ⊕
<i>L. delbrueckii</i> <i>ssp bulgaricus</i> 3520.	+ +	+ +	⊕ +	+ +	⊕ ⊕	+ ⊕	⊕ +	⊕ ⊕

Примітка. Взаємне стимулювання штамів забарвлено сірим кольором. ⊕ інтенсивний ріст за умов спільного культивування, + наявність росту, – відсутність росту



Взаємне стимулювання МКБ і біфідобактерій (синергізм) спостерігали у 31 комбінаціях (див. табл.4.2, рис. 4.3). Інша форма симбіотичних взаємовідносин – коменсалізм – була виявлена у майже 22,2 % комбінацій. Встановлено стимулювання росту біфідобактерій лактобактеріями у 14,3 % комбінацій, а у 7,9 % комбінації – стимулювання росту лактобактерій біфідобактеріями.

Взаємне пригнічення культур було зафіксоване у 3 комбінаціях (*L. helveticus* 3605 + *B. longum* 4500; *L. plantarum* 3207 + *B. longum* 4206; *L. rhamnosus* 3333 + *B. adolescentis* 4407).

Активний антагонізм (III) був майже у 17,5 % комбінацій. Лактобактерії пригнічували ріст біфідобактерій у 6 комбінаціях та 5 комбінаціях встановлено пригнічування лактобактерій біфідобактеріями.

За результатами проведених досліджень було відібрано найактивніші 18 двокомпонентні комбінації культур лакто- та біфідобактерій, які за спільного культивування є не тільки сумісними, а й стимулюють одна одну.

Вищезначені 18 двокомпонентних комбінацій було взято за основу для створення трьох- та чотирьохштамових композицій, поєднуючи їх у різних варіантах.

Було скомпоновано вісімнадцять трьох- та чотирьохштамових композицій зі співвідношенням штамів 1:1:1 та 1:1:1:1, зокрема, по 6 композицій для кожного виду тварини та птиці (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Характеристика створених заквашувальних композицій

композиції	Бактеріальний склад	Співвідношення між штамми	Кислотність, од. рН
1	<i>B.infantis</i> 4302 : <i>L. acidophilus</i> 3137: <i>L. paracasei</i> 3800.	1:1:1	3,65±0,05
2	<i>B. infantis</i> 4302 : <i>B. animalis</i> 4403: <i>L. helveticus</i> 3605	1:1:1	3,74 ±0,06
3	<i>B. animalis</i> 4403 : <i>L. acidophilus</i> 3137 : <i>L. paracasei</i> 3800	1:1:1	3,82±0,04

Продовження таблиці 4.3

4	<i>B.adolescentis</i> 4407: <i>L. acidophilus</i> 3137: <i>L. casei</i> 3323 : <i>L. paracasei</i> 3801	1:1:1:1	3,60±0,05
5	<i>B. infantis</i> 4302 : <i>B. animalis</i> 4506: <i>L. acidophilus</i> 3137: <i>L. paracasei</i> 3801	1:1:1:1	3,55±0,08
6	<i>B. infantis</i> 4302 : <i>B. animalis</i> : <i>L. helveticus</i> 3605 : <i>L. paracasei</i> 3801.	1:1:1:1	3,98±0,07
7	<i>B. longum</i> 4206 : <i>L. helveticus</i> 3605 <i>L. plantarum</i> 3206	1:1:1	3,85±0,04
8	<i>B. adolescentis</i> 4407 : <i>L. delbrueckii ssp bulgaricus</i> 3520 : <i>L. acidophilus</i> 3137	1:1:1	3,70±0,08
9	<i>B. suis</i> 4600 : <i>B. longum</i> 4206 <i>L. paracasei</i> 3800	1:1:1	3,85±0,06
10	<i>B. animalis</i> : <i>B. suis</i> 4600: <i>L. plantarum</i> : 3203 <i>L. casei</i> 3323	1:1:1:1	3,65±0,05
11	<i>B. infantis</i> 4302 : <i>B. suis</i> 4500 : <i>L. paracasei</i> 3800 : <i>L. plantarum</i> 3207	1:1:1:1	3,45±0,07
12	<i>B. suis</i> 4600 : <i>B. adolescentis</i> 4407 <i>L. casei</i> 3323 : <i>L. rhamnosus</i> 3333	1:1:1:1	3,75±0,06
13	<i>B. pullorum</i> 4601: <i>B. gallinarum</i> 4700 : <i>L. paracasei</i> 3801	1:1:1	4,12±0,08
14	<i>B. gallinarum</i> 4700: <i>L. paracasei</i> 3800 : <i>L. plantarum</i> 3207	1:1:1	3,97±0,05
15	<i>B. pullorum</i> 4601: <i>L. paracasei</i> 3801 : <i>L. casei</i> 3323	1:1:1	4,02±0,03
16	<i>B. pullorum</i> 4601 : <i>L. paracasei</i> 3800 : <i>L. plantarum</i> 3207 : <i>casei</i> 3323	1:1:1:1	3,85±0,07
17	<i>B. pullorum</i> 4601: <i>B. gallinarum</i> 4700: <i>L. casei</i> 3323 : <i>L. paracasei</i> 3801	1:1:1:1	3,96±0,04
18	<i>B. pullorum</i> 4601 : <i>L. plantarum</i> 3207 : <i>L. paracasei</i> 3801: <i>L. rhamnosus</i> 3333.	1:1:1:1	3,55±0,06
19	K-1* <i>B. longum</i> 135: <i>P. schermanii</i> H-110 : <i>Lb. acidophilus</i> 20 y : <i>Lb. acidophilus</i> 38 c	5:2:0,5: 0,5	3,75±0,07

Примітка * - контроль, композиція "БМК".

У середовищі ГМ з додаванням 0,5 % глюкози та 0,5 % лактози (рН 6,5) було перевірено здатність до спільного росту за показниками кислотоутворення (див. табл. 4.3) та нагромадження клітин кожного зі складників композиції (рис.

4.3). Кількість внесеного інокуляту складала 5 % до об'єму поживного середовища.

За контроль (К-1) було взято відому заквашувальну композицію “БМК”, до складу якої входила чотирьохкомпонентна комбінація штамів *B. longum* 135: *P. schermanii* H-110 : *Lb. acidophilus* 20 у : *Lb. acidophilus* 38 с у співвідношенні 5:2:0,5:0,5 [142].

Встановлено, що після 14 год культивування всі створені заквашувальні композиції знижували активну кислотність на 53–43 % відносно початкового значення (рН 6,5) у середовищі (див. табл. 4.3).

Активне зниження кислотності до рН 3,55-3,60 у культуральній рідині негативно не впливало на життєздатність біфідобактерій і мали приріст чисельності в межах 4,32-14,76 рази (див. рис. 4.3).

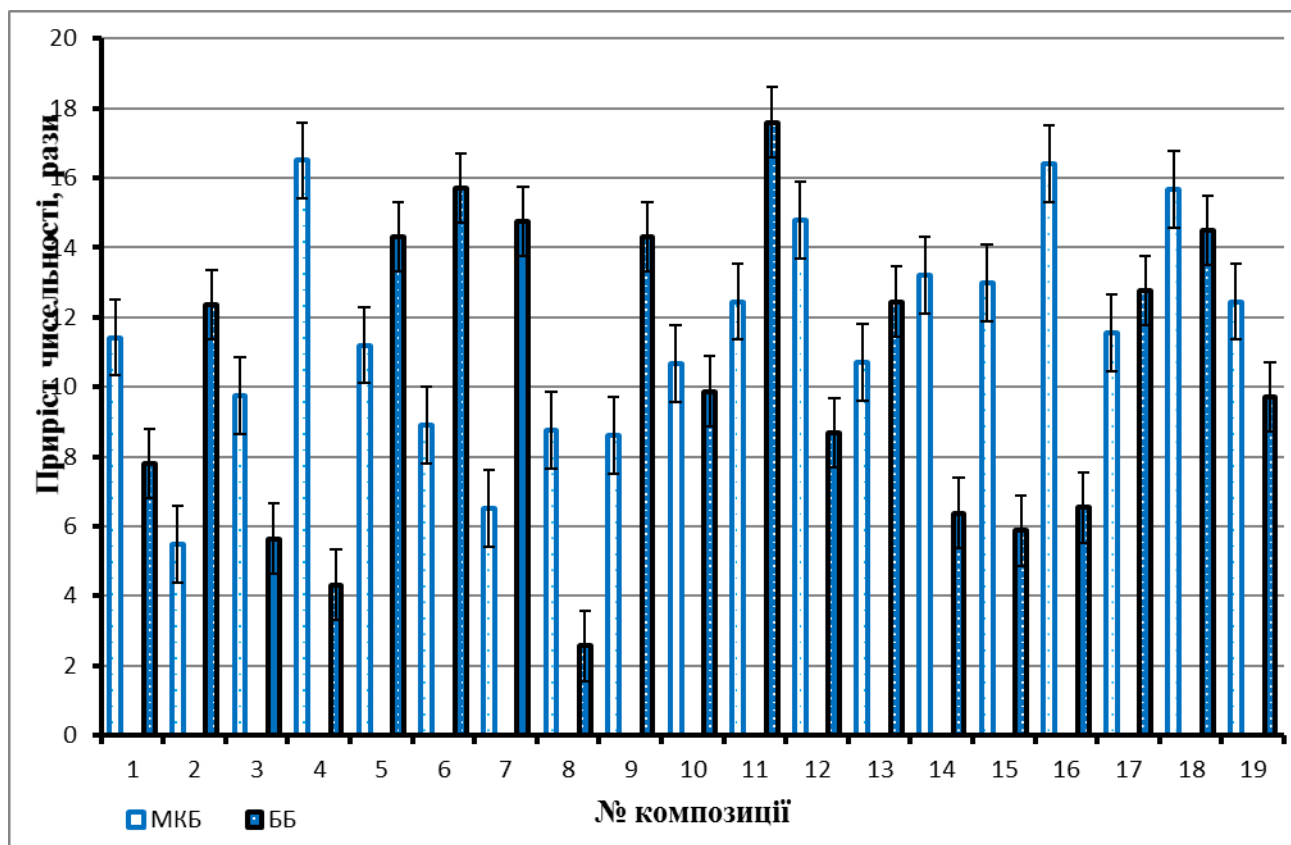


Рис. 4.3. Культивування створених заквашувальних композицій упродовж 18 год. (Нумерація зазначених заквашувальних композицій відповідає такій у табл. 4.3 МКБ –молочнокислі бактерії, ББ - біфідобактерії.)

Для композиції 8 спостерігали пригнічення біфідобактерій лактобактеріями, їхня чисельність збільшилась лише в 2,56 рази.

У результаті проведених досліджень було відібрано 3 композиції (5, 11, 18), у яких зростала чисельність мікроорганізмів: МКБ – у 11,1–15,67 рази та ББ – у 14,3–17,6 рази. Для цих композицій спостерігали взаємне стимулювання складників, яке сприяло активному розвитку мікроорганізмів. Згадані композиції було взято до наступних досліджень. Слід зазначити, що за таких умов у контрольному варіанті кількість ЛБ та ББ зросла у 12,45 рази і 9,7 разів відповідно.

Незважаючи на високу біологічну активність, мікробіоти, яку залучають до складу пробіотиків, є надзвичайно чутливою до факторів зовнішнього середовища, джерел харчування та технологічних режимів, що є відчутною завадою не тільки при виробництві промислових препаратів, а й при її використанні.

Бактерії роду *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* відносяться до мікроорганізмів, які мають складні поживні потреби. Для їх активного розвитку потрібна наявність речовин, необхідних для забезпечення їх життєздатності і для росту більшості цих мікроорганізмів необхідні органічні форми азоту, які вони самі не синтезують. Багатьом видам лактобацил для розвитку необхідні вітаміни, макро- та мікроелементи, вуглеводи тощо. Цим пояснюється значний вплив на їх розвиток добавок до поживних середовищ різних екстрактів (наприклад, дріжджового, кукурудзяного), а також вітамінів. Присутність у середовищі мікроелементів магнію і марганцю також істотно впливає на розвиток цих мікроорганізмів. Марганець перешкоджає автолізу клітин і необхідний для нормальних процесів жирового обміну. Наявність солей заліза в поживному середовищі сприяє росту культур, причому встановлено, що вони практично не ростуть за відсутності марганцю та / або заліза [26]. Таким чином, поживне середовище повинно задовольняти потреби всіх складових.

Під час застосування пробіотиків було помічено, що їхня функціональна активність істотно підвищується у разі поєднання їх з іншими функціональними добавками, наприклад преміксами. Премікси – це суміш біологічно активних рістстимулювальних і лікувально-профілактичних речовин, що широко застосовується у ветеринарній практиці. Рецептури преміксів є науково обґрунтованими і враховують особливості фізіології тварин, для яких вони призначаються. До складу преміксів, зазвичай, залучають макро- та мікроелементи, вітаміни, амінокислоти, антиоксиданти, ферменти, антибіотики та інші сполуки. Такий набір біологічно активних речовин здатний задовольнити харчові потреби також молочнокислих і біфідобактерій, які, як відомо, є надзвичайно вимогливими до елементів живлення і для свого повноцінного розвитку потребують не тільки вуглець та азотовмісні речовини, а й багатьох факторів росту та мінеральних сполук. Тому у виробництві пробіотиків значну увагу приділяють складу поживного середовища, яке в повній мірі могло б забезпечити максимальне нагромадження біомаси бактерій зі збереженням їх функціональної активності [18, 59, 254].

З цих позицій премікси можна розглядати як перспективну технологічно функціональну добавку для збагачення промислового поживного середовища для нагромадження біомаси молочнокислих та біфідобактерій, як рістстимуляторних факторів лактобацил та біфідобактерій.

4.3.1 Вплив преміксів на розвиток штамів-пробіотиків

Було проведено оцінювання впливу преміксів ФІЗ та Три-Сол на розвиток промислових штамів молочнокислих та біфідобактерій характеристика препаратів наведена у розділі 2.

Для нагромадження біомаси мікроорганізмів використовували рідке поживне середовище (ПС0), основу якого складала освітлена сироватка з додаванням стимуляторів росту цитрату й оцтовокислого натрію. У дослідні варіанти середовища додатково вносили премікси ФІЗ та Три-Сол у різних

кількості. Контролем слугувало середовище на основі молочної сироватки з додаванням 1 % цитрату натрію та 0,5 % ацетану натрія.

Склад досліджуваних варіантів поживних середовищ наведено у табл.4.4

Культивування мікробіоти композицій вели впродовж 12 год за температури, а саме біфідобактерій (40 ± 1) °С, молочнокислих бактерій – (36 ± 1) °С.

Інтенсивність розвитку штамів у поживних середовищах оцінювали за динамікою нагромадження клітин та зміною активної кислотності. Розраховували наступні параметри: тривалість лаг-фази (T_l), константа швидкості поділу (число поділу клітини за 1 год) (ν , год⁻¹) та термін регенерації (g, год), урожайність (X , мг), економічний коефіцієнт (Y). Чисельність клітин мікроорганізмів упродовж росту визначали фотокolorиметрично за оптичною густиною культуральної рідини ($\lambda = 540$ нм) з наступним перерахунком за відповідним калібрувальним графіком [82].

Таблиця 4.4

**Склад поживних середовищ для нагромадження біомаси штамів
лактобацил та біфідобактерій**

Показник	Варіанти середовищ									
	ПС0	ПС1	ПС2	ПС3	ПС4	ПС5	ПС6	ПС7	ПС8	К
Молочна сироватка, дм ³	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-
ФІЗ, г	-	0,5	1,0	1,5	2,0	-	-	-	-	-
Три-сол, г	-	-	-	-	-	0,5	1,0	1,5	2,0	-
Цитрат натрію, г	10	10	10	10	10	10	10	10	10	-
Ацетат натрію, г	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-
МРС, дм ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
рН після стерилізації	6,3	6,25	6,35	7,15	7,1	7,1	7,0	6,55	6,4	6,45

Примітка *. (-) компонент середовища відсутній.

Для визначання чисельності молочнокислих бактерій в аналітичній практиці використовують збалансоване за основними нутрієнтами поживне середовище

МРС. Проте промислове використання цього середовища є економічно не виправданим через його високу вартість, тому завжди виникає необхідність пошуку альтернативного, прийняттого для промислового нагромадження біомаси поживного середовища.

В експериментальних умовах було встановлено, що максимальна кількість лактобактерій, що нагромадилась у середовищі МРС (контроль), коливалась в межах (9,22 - 9,49 lg) КУО/см³, а біфідобактерій – (9,36 lg N) КУО/см³. У дослідному поживному середовищі ПС0 клітин лактобацил було менше у 18, 19 і 25 разів, відповідно *L. casei* 3323, *L. paracasei* 3801 та *L. plantarum* 3207 було менше, що свідчило про нестачу факторів росту у цьому варіанті середовища. Особливо несприятливим середовище ПС0 було для біфідобактерій – чисельність цих мікроорганізмів була майже в 70 разів меншою, ніж у середовищі МРС.

Для підвищення ефективності ростового середовища було використано премікси ФІЗ та Три-Сол. Збагачення ПС0 згаданими преміксами позитивно вплинуло на нагромадження клітин штамів молочнокислих і біфідобактерій, при цьому ця дія залежала як від виду мікроорганізму, так і кількості внесеного преміксу (рис. 1). Зокрема, премікс Три-Сол найліпше задовольняв потреби *L. casei* 3323 та *L. paracasei* 3801, тоді як премікс ФІЗ – *L. plantarum* 3207 і *B. Suis* 4500. Навіть за мінімальної концентрації преміксу 0,5% чисельність усіх обстежених культур істотно зросла, досягаючи максимального значення за концентрації преміксів у середовищі 1,0 %. Збільшення кількості преміксів призводило до поступового зменшення кількості мікроорганізмів в культурах [82].

Загалом дослідні варіанти поживних середовищ ПС2 і ПС6, до складу яких було внесено 1 % того и іншого преміксу, забезпечували урожайність на рівні середовища МРС (рис. 4.4)

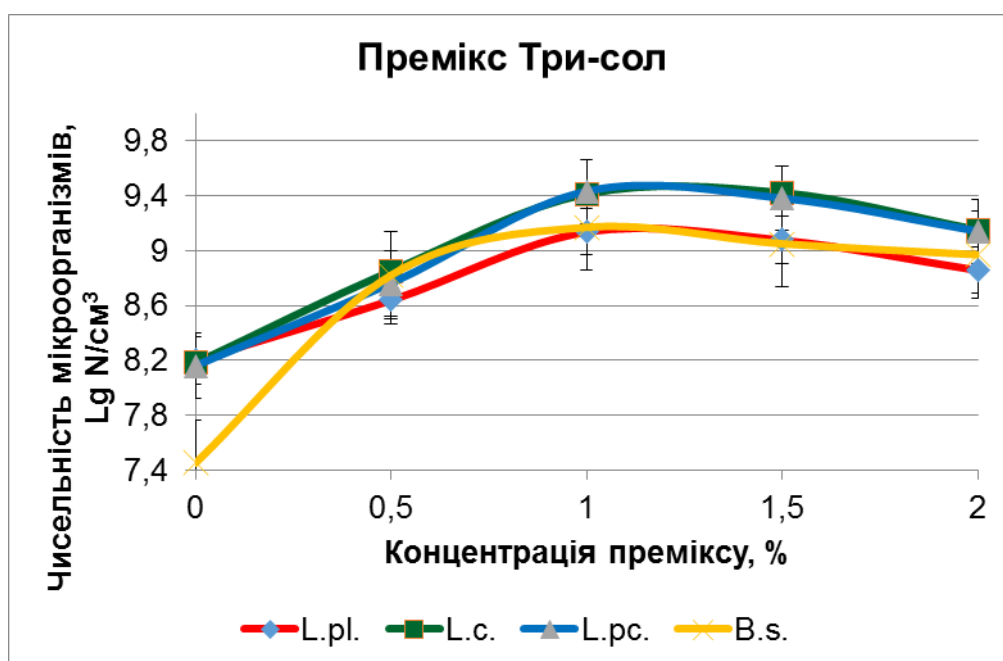
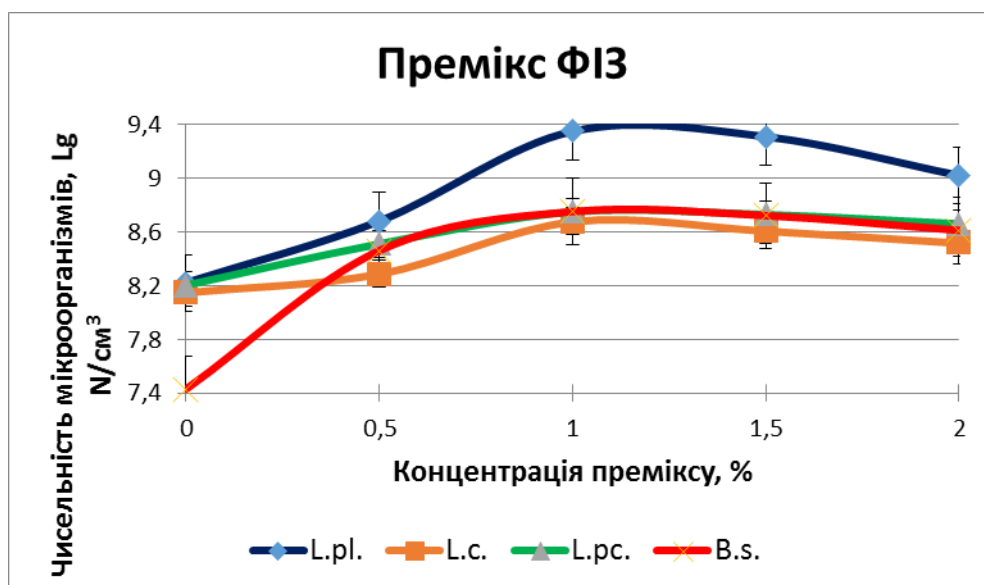


Рис. 4.4. - Чисельність клітин лактобацил та біфідобактерій за різної концентрації преміксів у поживному середовищі: а) премікс Три-сол, б) премікс ФІЗ (L.pl. – *L. plantarum* 3207, L.c. – *L. casei* 3323, L.pc. – *L. paracasei* 3801, B.s. – *B. suis* 4500).

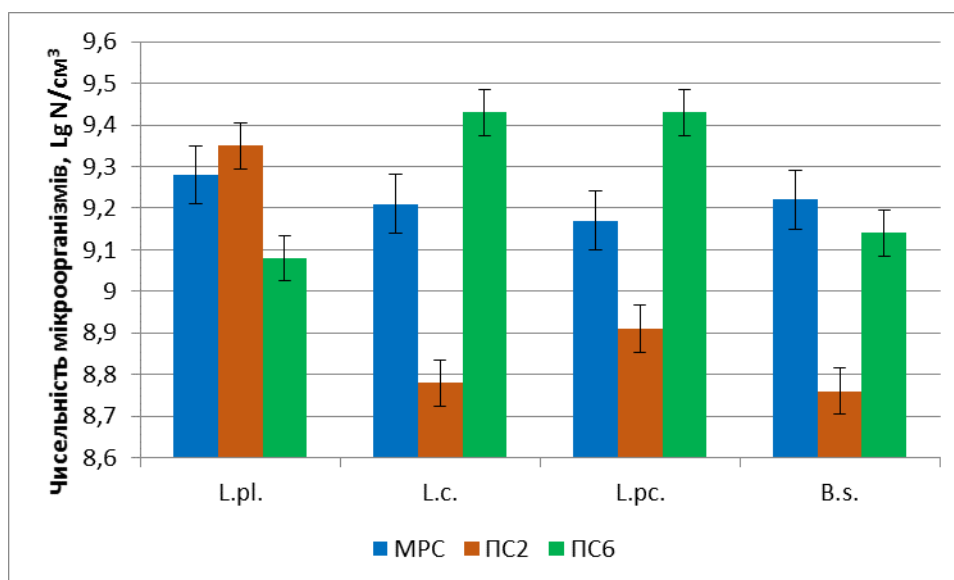


Рис. 4.5. Чисельність лактобацил та біфідобактерій у середовищах MPC, PC2 і PC6 L.pl. – *L. plantarum* 3207, L.c. – *L. casei* 3323, L.pc. – *L. paracasei* 3801, B.s. – *B. suis* 4500.

Звертає на себе увагу той факт, що премікс ФІЗ був особливо ефективним для лактобацил *L. casei* 3323, *L. paracasei* 3801, тоді як премікс Три-Сол – для представника виду *L. plantarum* 3207. Що стосується біфідобактерій *B. suis* 4500, то обидва премікси ФІЗ і Три-Сол добре задовольняли потреби цього мікроорганізму, відповідно на 98 % і 94 % від контролю. Така закономірність пояснюється особливим складом використаних преміксів, особливо преміксу ФІЗ, до складу якого входять біфідогенні фактори, такі як інулін, фруктоолігосахариди, комплекс необхідних вітамінів та антиоксидантів. З іншого боку, залучення до складу промислового середовища згаданих преміксів не тільки забезпечує збільшення виходу біомаси культур, а може розглядатись як стимулятор функціональної активності штамів у разі їх використання як пребіотиків. Все це свідчить про їх високий промисловий потенціал [307].

Порівняльний аналіз розвитку означених вище штамів молочнокислих та біфідобактерій у дослідних середовищах PC2 і PC6, дозволив визначити характерні закономірності кінетики росту культур. Результати цих досліджень відображено у табл. 4.5.

Таблиця 4.5

**Основні параметри росту молочнокислих бактерій за розвитку у
присутності преміксів ФІЗ та Три-Сол**

Штами	Середовище	$\mu_{\text{макс}}$ год ⁻¹	Тривалість lag-фази, T _i год	Константа швидкості поділу, ν од/год ⁻¹	Термін регенерації g, год.	Урожайність, X·10 ⁸ КУО/см ³
<i>L. paracasei</i> 3801	MRS	0,28	2,48	0,43	2,33	9,5
	ПС0	0,15	4,62	0,2	5	1,1
	ПС2	0,24	2,89	0,38	2,63	5,7
	ПС6	0,34	2,04	0,68	1,47	11,53
<i>L. casei</i> 3323	MRS	0,3	2,31	0,44	2,27	6,91
	ПС0	1,93	4,36	0,22	4,55	0,77
	ПС2	0,34	2,04	0,5	2	13,3
	ПС6	0,29	2,39	0,43	2,33	4,86
<i>L. plantarum</i> 3207	MRS	0,19	3,65	0,29	3,45	2,54
	ПС0	0,15	4,62	0,21	4,76	0,67
	ПС2	0,37	1,87	0,55	1,82	13,66
	ПС6	0,32	2,17	0,47	2,13	10,3
<i>B. suis</i> 4500	MRS	0,29	2,39	0,42	2,38	6,88
	ПС0	0,17	4,07	0,25	4	1,5
	ПС2	0,27	2,57	0,39	2,56	6
	ПС6	0,29	2,39	0,46	2,17	11,4

Було встановлено, що додавання преміксів скорочувало майже удвічі тривалість латентного періоду та терміну регенерації культур молочнокислих бактерій, особливо у варіанті ПС6 [82].

Водночас премікси дещо знижували швидкість росту лактобацил про що свідчить зменшення величини константи швидкості поділу, що певною мірою відбивалося на урожайності культур.

Загалом, молочнокислі бактерії впродовж 12 год росли з константою швидкістю поділу клітин (ν) від 0,20 год⁻¹ до 0,50 год⁻¹. Для штамів *L. casei* 3323 та *L. paracasei* 3801 стаціонарна фаза наступала на 10 год культивування, для штаму *L. plantarum* 3207 – на 14 год. Термін регенерації (g) становив 1,5- 4,5

год. Максимальна чисельність клітин культур лактобактерій за визначений термін була $(2,5 \div 13,5) \cdot 10^8$ КУО/см³.

На адаптацію *B. suis* 4500 згадані премікси майже не впливали і тривалість лаг-фази у дослідних середовищах ПС2 і ПС6 була такою ж як в контролі, відповідно 2,57, 2,39 і 2,39 (рис. 4.6).

Кислотність культуральної рідини на 12 годину росту у середовищі MRS і ПС2 була майже однаковою – 4,20 і 4,22 од. рН, відповідно, але її зниження під час росту у середовищі відбувалося значно швидше, ніж у середовищі MRS. За 4 години культивування рН ПС2 знизилося на 2,04 од., а середовища MRS – лише 1,35 од. Дещо менш активно змінювалася кислотність у ПС3 і зовсім повільно з постійною швидкістю – у середовищі ПС4 (див. рис. 4.6). Найвищого приросту клітин біфідобактерій у середовищі MRS – $1,21 \cdot 10^9$ КУО/см³ було досягнуто на 12 год культивування, як для середовища ПС2 ця кількість була уже на 9 годину культивування.

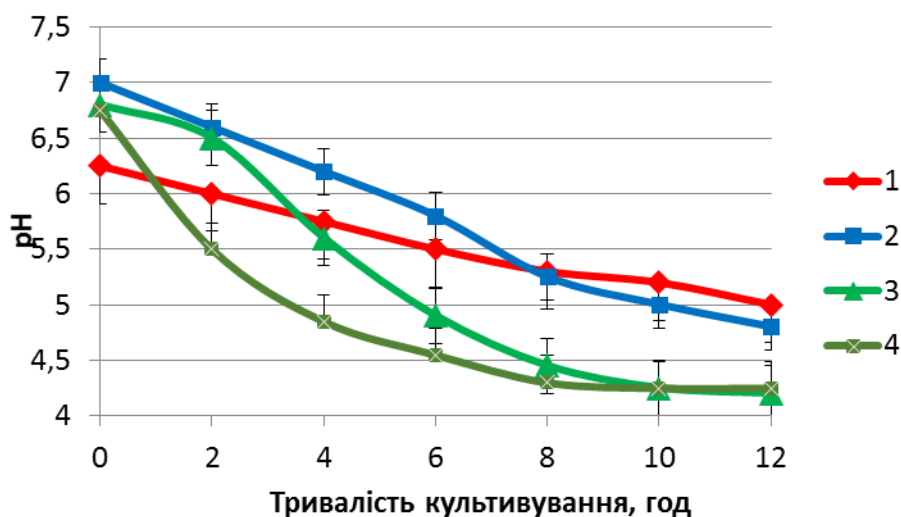


Рис. 4.6. Динаміка зміни рН культуральної рідини у різних поживних середовищах (1. – ПС 8; 2. – Контроль; 3. - ПС 2; 4. - ПС 6)

Для нагромадження молочнокислих та біфідобактерій до поживного середовища слід додавати 1,0 % преміксів

Додавання 1,0 % преміксу збільшило кількість клітин молочнокислих бактерій у поживному середовищі для всіх штамів культур більше ніж в 2-3 рази порівняно з контролем.

Із отриманих результатів випливає, що за культивуванні у поживних середовищах ПС 2 та ПС 6 можна отримати значно вищий вихід клітин, ніж у контрольному середовищі MRS.

Отримані дані дають підстави рекомендувати використовувати премікси ФІЗ та Три-соль як промотори росту досліджуваних культур.

Найкращі показники приросту чисельності молочнокислих бактерій було отримано у варіанті середовища ПС 2 та ПС 6, зокрема, урожайність молочнокислих бактерій зросла у 12,5 рази, а біфідобактерій у 6,4 рази порівняно з початковим вмістом.

Результати роботи опубліковані в [76, 84, 85].

Відомо, що найбільш важливим джерелом енергії для лакто- та біфідобактерій є моно- та дисахариди – глюкоза, лактоза, сахароза, мальтоза [173, 270].

4.3.2 Підбір концентрації вуглеводів

Наступним етапом досліджень було підбір оптимальної концентрації вуглеводів до складу виробничого середовища та визначення його оптимальної концентрації. Більшість відібраних культур зброджували глюкозу та лактозу, вивчали вплив різних концентрацій цих цукрів на розвиток *B. suis* та *L. paracasei* (рис. 4.7).

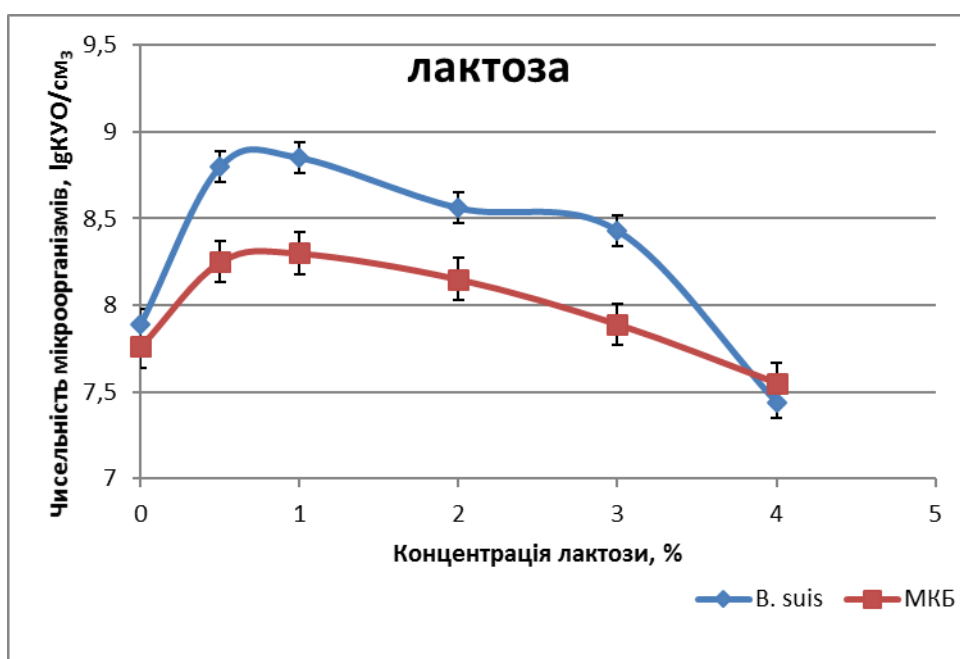
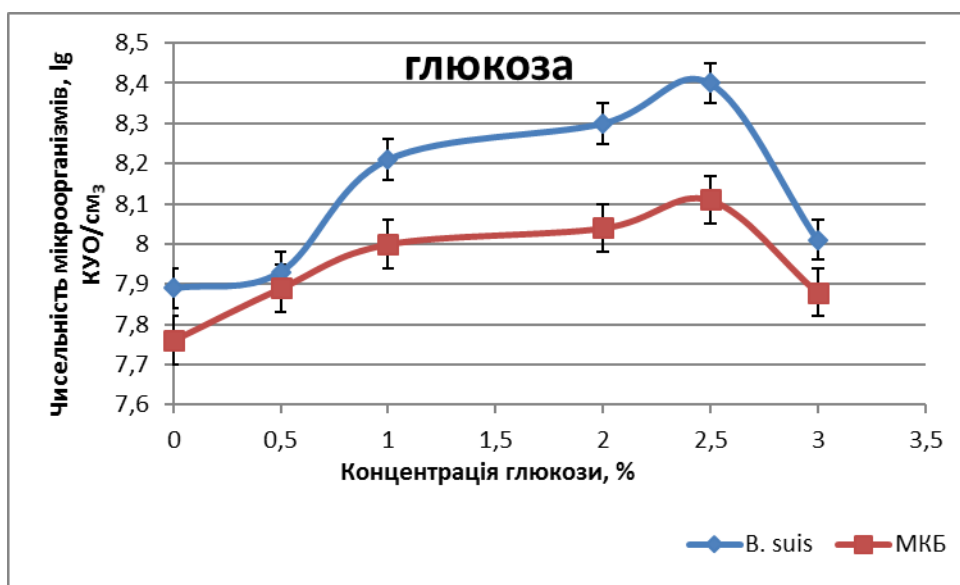


Рис. 4.7. Зміна чисельності мікроорганізмів в залежності від концентрації вуглеводів: а) глюкози; б) лактози.

Отримані дані свідчать, що для МКБ оптимальною є концентрація глюкози – 2,5 %, лактози – 1 %, для ББ 2 % та 1 % відповідно.

У разі збільшення початкової концентрації глюкози у середовищі фаза експоненційного росту наступала одразу після внесення інокуляту. Упродовж перших 6 год культивування відбувався ріст МКБ з константою швидкості поділу (ν) $0,9 \text{ год}^{-1}$, після чого спостерігали сповільнення їх росту. В той час біфідобактерії активно росли лише перші три години, максимальної

чисельності досягали на 9 год, і за весь час культивування приріст життєздатних клітин становив $6,0 \times 10^7$ КУО/см³. Подібне спостерігали за умов збільшення концентрації лактози (на рис. 4.7).

Для успішного культивування того чи іншого мікроорганізму поживні середовища за своїми властивостями повинні бути наближені до природних умов його проживання. Для культивування бактерій роду *Lactobacillus* використовуються середовища, багаті поживними речовинами (дріжджовий екстракт, гідролізат знежиреного молока, пептони, твін-80), різними солями, в тому числі ацетатом натрію і ін., і мають низький рівень pH (4,5-6, 2).

Для культивування біфідобактерій використовують різні поживні середовища: Блаурок, казеїново-дріжджове та гідролізоване молочне середовище, які доволі складні у приготуванні та недоцільні з економічної точки зору.

Традиційно молочнокислі мікроорганізми культивують і підтримують у стерильному молоці, але його застосування при виробництві бактеріального концентрату, як середовища культивування, неприйнятно з технологічної точки зору. Відомо, що застосовуються при культивуванні молочнокислих та біфідобактерій придатні збалансовані з азотного, вуглеводного і вітамінного складом середовища, які містять всі необхідні поживні і стимулюючі речовини, які легко засвоюються мікроорганізмами. Як джерело азоту використовують його органічні форми. Для стимулювання росту також застосовують амонійні солі.

Зі спеціальних поживних середовищ для культивування лактобактерій найбільш поширеним є середовище МРС, яке може містити дріжджовий і м'ясний екстракти, глюкозу, пептони, ацетат натрію, цитрат амонію і твін-80 - джерело жирних кислот, необхідних для метаболізму лактобактерій. Кислотність середовища - 6,2-6,4.

Обґрунтування складу ПС для нарощування біомаси композицій здійснювали на підставі власного досвіду з культивування молочнокислих та біфідобактерій. Було запропоновано компоненти поживного середовища, що

задовольняють потребу досліджених молочнокислих та біфідобактерій в джерелах азотистого харчування, вітамінах, вуглеводах, мінеральних речовинах.

4.4 Підбір поживного середовища

Було досліджено п'ять варіантів ростових середовищ, які розрізнялись поміж собою за типом і концентрацією джерел вуглецю, преміксів та азоту (табл. 4.6).

Для всіх досліджених середовищ спільними були такі складові: сухе знежирене молоко, глюкоза, цитрат та ацетат натрію, сульфати магнію і марганцю, премікс ФІЗ та Три-соль. До основи у різних співвідношеннях вводили інші компоненти.

Поживне середовище I готується на основі гідралізованого сухого знежиреного молока з додаванням пептону та ростових факторів.

Поживне середовище II готується на основі гідролізованого молока, збагаченого ростовими факторами. Від контролю відрізняється додатковим вмістом дріжджового екстракту, глюкози, цитрату натрію, сульфату магнію та мангану, аскорбінової кислоти та преміксів

ПС III порівняно з ПС II містить додатково сусло солодове, збільшену кількість цитрату натрію, сульфату мангану та аскорбінової кислоти.

У ПС IV порівняно з ПС III зменшено кількість кукурудзяного екстракту, цитрату натрію, магнію сульфату аскорбінової кислоти, збільшено кількість глюкози.

До ПС V порівняно з ПС IV додатково додали пептон та зменшували кількість кукурудзяного екстракту, дріжджового екстракту, глюкози.

Як контроль (К) було обрано середовище для отримання бактеріального концентрату БМК.

Таблиця 4.6

Склад поживних середовищ

№ п/п	Компоненти	Варіанти середовищ					
		К	I	II	III	IV	V
1	Вода, дм ³	1*	1	1	1	1	1
2	Сухе знежирене молоко, г	30,0	10,0	30,0	30,0	30,0	30,0
3	Протосубтілін 70 од.	0,3	-	0,3	0,3	0,3	0,3
4	Лактоза	5,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
5	Дріжджовий екстракт	-	10,0	10,0	5,0	5,0	5,0
6	Кукурудзяний екстракт, см ³	20,0	20,0	20,0	20,0	10,0	20,0
7	Глюкоза, г	-	15,0	15,0	20,0	20,0	20,0
8	Цитрат натрію, г	-	3,0	5,0	10,0	5,0	10,0
9	Ацетат натрію, г	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
10	Сусло солодове	-	-	-	10	-	-
11	MgSO ₄ , г	-	0,2	0,5	0,5	0,2	0,5
12	MnSO ₄ , г	-	0,5	0,16	0,2	0,2	0,5
13	FeSO ₄ · 7H ₂ O, мг	0,05	-	0,1	0,1	0,1	0,1
14	Аскорбінова кислота, мг	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
15	Пептон	-	7,0	-	-	-	-
16	Три-соль	-	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
17	ФІЗ	-	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
рН до стерилізації		7,1	7,3	6,8	7,1	7,0	6,8
рН після стерилізації		6,6	6,25	6,4	6,35	6,4	6,25

Оскільки відібрані штами є термофілами та істотно не розрізняються за оптимальною температурою росту – (37 ± 2) °С, температурні режими культивування не потребували додаткових досліджень.

Перш, ніж перейти до визначення параметрів культивування бактеріальних композицій К5, К11, К18 вважали за необхідне дослідити розвиток окремих штамів на наведених вище ростових середовищах. Культивування чистих культур мікроорганізмів здійснювали за температури

(37 ± 2) °C упродовж 14 год Кількість внесеного інокуляту складала 5 % від об'єму середовища.

Динаміку розвитку лакто- та біфідобактерій представлено на рис. 4.8

При культивуванні мікроорганізмів *L. acidophilus* 3137, *L. paracasei* 3801 та *L. paracasei* 3800 найбільш інтенсивний розвиток спостерігали протягом перших 6 годин інкубації, про що свідчить високі показники питомої швидкості росту. У подальшому процес нагромадження біомаси уповільнювався, для штаму *L. acidophilus* через 6 годин інкубування наступала стаціонарна фаза розвитку, а для штамів *L. paracasei* 3801 та *L. paracasei* 3800 через 8 годин.

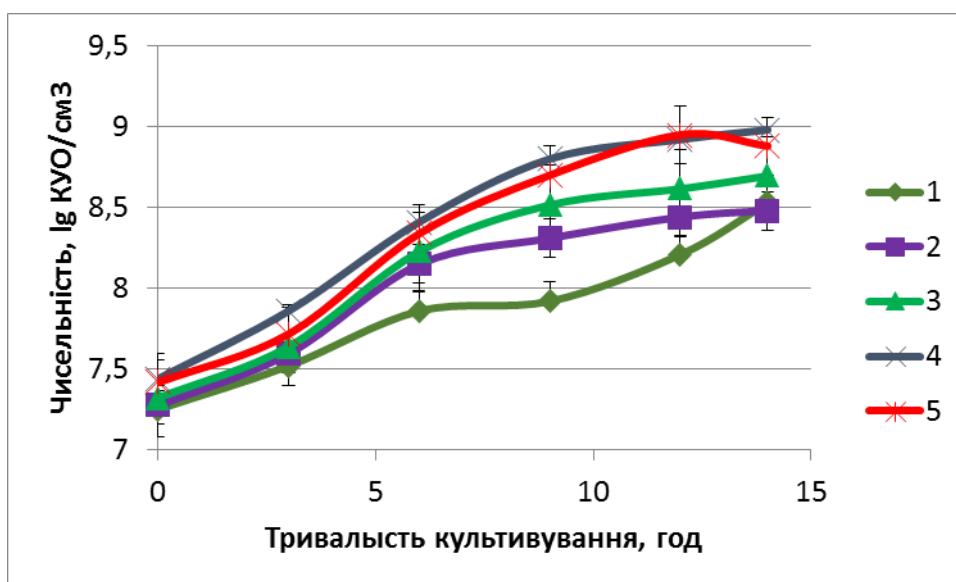


Рис. 4.8. Динаміка розвитку штамів упродовж культивування у ПС (1 – *B. infantis* 4302 (ПС); 2- *B. infantis* 4304 (ПС), 3- *B. animalis* 4505; 4- *B. suis* 4500; 5- *B. pullorum* 4601)

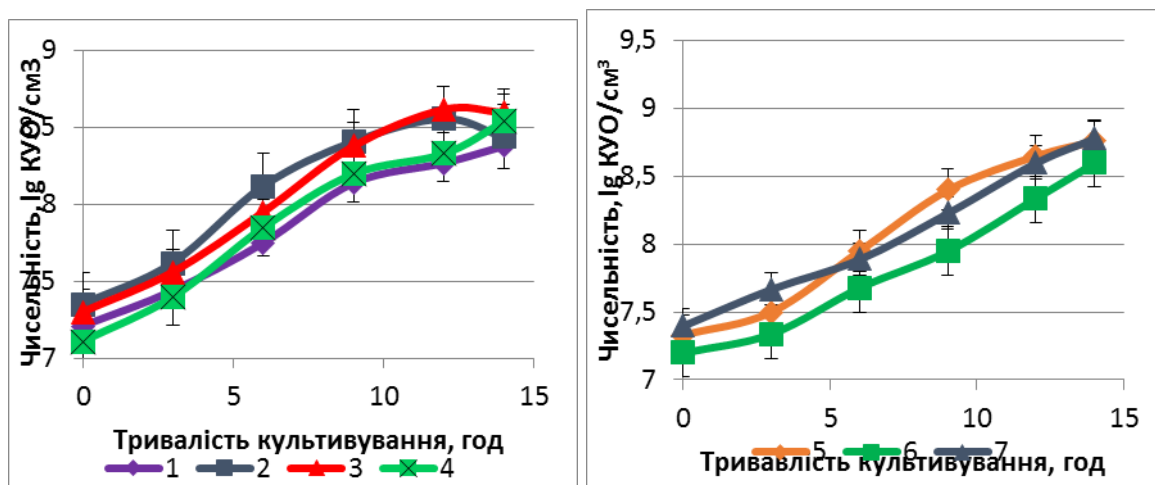


Рис. 4.9. Динаміка розвитку штамів упродовж культивування у ПС (1 – *L. acidophilus* 3137; 2- *L. paracasei* 3801; 3- *L. paracasei* 3800; 4- *L. plantarum* 3207; 5- *L. plantarum* 3203; 6- *L. casei* 3323; 7 - *L. rhamnosus* 3333)

З отриманих результатів випливає, що оптимальними для культивування мікроорганізмів являються поживні середовища ПС 1 та ПС 2. Вони забезпечують найвищий вихід селекціонованих штамів МКБ та і ББ ($p < 0,05$).

За таких умов тривалість латентного періоду (T_1) для всіх штамів не перевищувала однієї години. Для лактобактерій експоненційна фаза тривала з 3-ої до 12-ої год, константа швидкості поділу (ν) у цей період становила 0,17-0,28 год⁻¹; надалі швидкість росту поступово сповільнювалася, а після 15 год кількість життєздатних клітин зменшувалась. Для штамів *L. paracasei* 3800, *L. paracasei* 3801, *L. acidophilus* 3137 та *L. rhamnosus* 3333 експоненційна фаза тривала з 3-ої до 9-ої год, а після 12 год константа швидкості поділу набувала від'ємних значень. Для штамів *L. plantarum* 3207 та біфідобактерій експоненційна фаза росту також тривала до 9-ої год, але ще 9 годин культивування штами перебували у фазі сповільненого росту і константа швидкості поділу була позитивною.

Таблиця 4.6

Основні параметри росту окремих культур культур

	lg N ₀	lg N	v, од./год ⁻¹	g, год	x·10 ⁷ , КУО	X _k ·10 ⁷ , КУО	X ₀ ·10 ⁷ , КУО	μ _{max} , год ⁻¹	T, год
<i>B. infantis</i> 4302	6,12	8,08	0,27	3,69	11,87	12	0,13	0,18	3,83
<i>B. animalis</i> 4506	6,05	7,8	0,24	4,13	6,2	6,31	0,11	0,16	4,28
<i>B. suis</i> 4500	6,32	7,86	0,21	4,69	7,03	7,24	0,21	0,14	4,89
<i>B. pullorum</i> 4601	6,25	8	0,24	4,13	9,82	10	0,18	0,16	4,31
<i>L. paracasei</i> 3800	6,06	8,11	0,28	3,52	12,78	12,9	0,12	0,19	3,70
<i>L. plantarum</i> 3204	6,11	7,8	0,23	4,27	6,18	6,31	0,13	0,16	4,46
<i>L. acidophilus</i> 3137	6,32	7,56	0,17	5,83	3,42	3,63	0,21	0,11	6,08
<i>L. paracasei</i> 3801	6,25	8	0,24	4,13	9,82	10	0,18	0,16	4,31
<i>L. rhamnosus</i> 3333	6,14	7,76	0,22	4,46	5,61	5,75	0,14	0,15	4,66

Таким чином, в результаті проведених досліджень були визначені компоненти поживного середовища, щоб забезпечити високий вихід МКБ та ББ, в джерелах азоту, вітаміни, вуглеводи, мінеральні речовини, як білкового компонента - гідролізат знежиреного молока, оскільки вони прості в приготуванні, технологічні, мають невисоку вартість. Визначено можливі джерела вуглеводного живлення (глюкоза та лактоза) і їх кількість 1 % в поживному середовищі. Досліджено вплив ростових факторів на розвиток МКБ ТА ББ: дріжджового екстракту, пептона, ацетату натрія. Визначено оптимальний вміст досліджуваних компонентів у складі поживного середовища. Визначено остаточний склад поживних середовищ для культивування мікробних композицій в процесі отримання бактеріальних концентратів.

Нарощування бактеріальної маси композицій проводили з періодичним розкисленням середовища протягом 14 годин. Про ефективність застосування перелічених компонентів судили за максимальною урожайністю молочнокислих та біфідобактерій.(табл. 4.7)

Як бачимо на рис. 4.10, найменш придатними для накопичення біомаси композиції К 5 були ПС I. Воно не забезпечувало оптимальних умов росту для біфідобактерій. При культивуванні композиції у П I рівень накопичення біомаси культур був нижчим за контроль ($p < 0,05$). Максимальне накопичення композиції К5 зафіксовано у ПС III. Подібні результати були отримані і для композиції К1. Для композиції К 11 найбільш придатним було середовище ПС IV. Композиція К 18 нагромаджувалася максимально у двох середовищах, а саме П III та ПС V ($p < 0,05$).

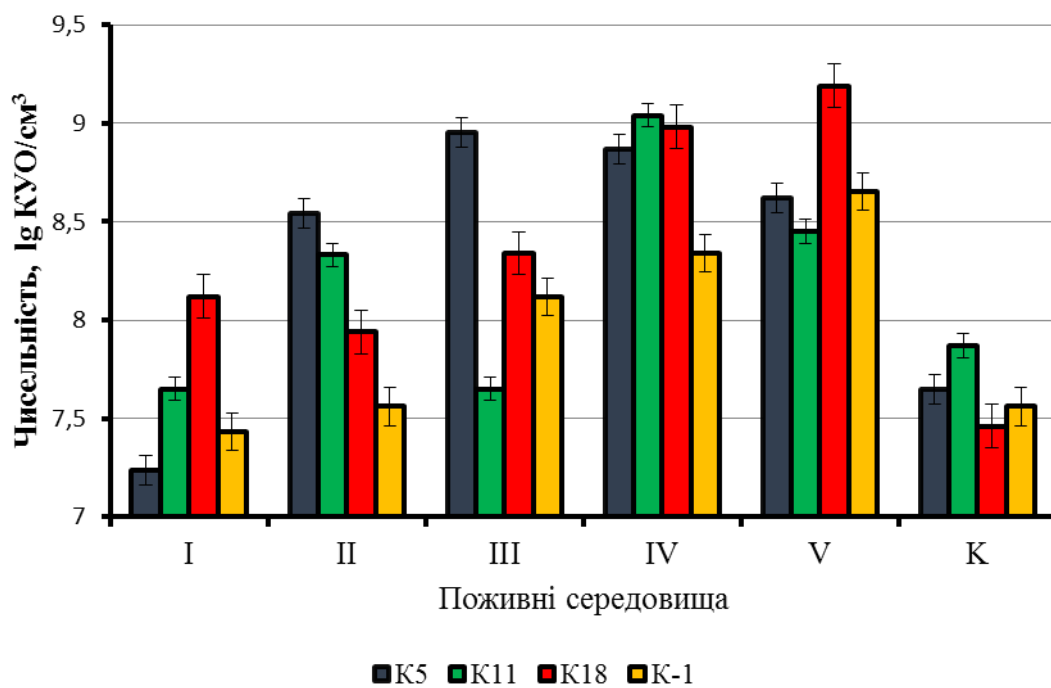
Результати роботи опубліковано в [147].

Таблиця 4.7

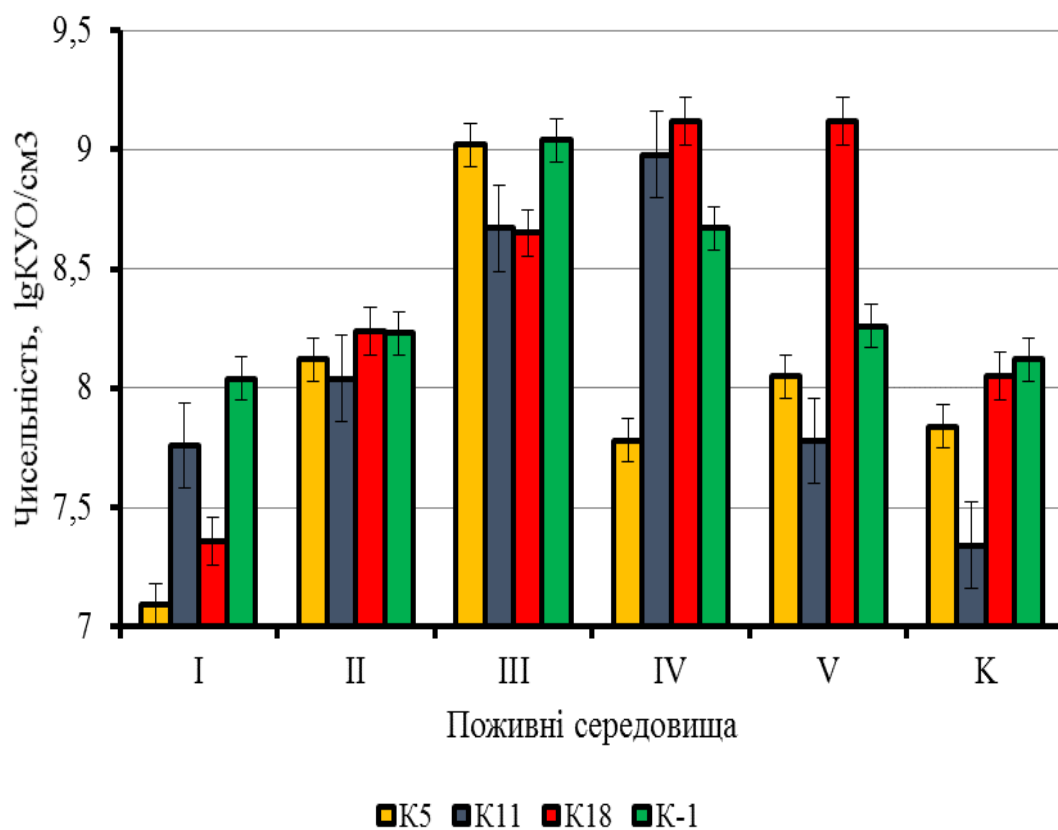
Чисельність лакто- та біфідобактерій при культивуванні у ростових середовищах, lgKУО/см³

№ середовища	<i>K 5*</i>		<i>K 11</i>		<i>K 18</i>		<i>K-1*</i>	
	<i>МКБ</i>	<i>ББ</i>	<i>МКБ</i>	<i>ББ</i>	<i>МКБ</i>	<i>ББ</i>	<i>МКБ</i>	<i>ББ</i>
I	7,24±0,15	7,09±0,11	8,45±0,24	7,76±0,37	8,12±0,16	7,36±0,202	7,43±0,61	8,04±0,65
II	8,54±0,08	8,12±0,11	8,33±0,14	8,04±0,13	7,94±0,28	8,24±0,152	7,56±0,53	8,23±0,68
III	8,63±0,09	9,02±0,04	7,65±0,17	8,67±0,14	8,34±0,05	8,65±0,466	8,12±0,67	9,04±0,37
IV	8,87±0,08	7,78±0,15	9,16±0,35	8,98±0,03	8,98±0,06	9,12±0,38	8,34±0,77	8,67±0,49
V	8,62±0,11	8,05±0,16	8,45±0,27	7,78±0,14	8,56±0,14	8,12±0,97	8,65±0,84	8,26±0,54
K	7,65±0,17	7,84±0,17	7,87±0,07	7,34±0,08	7,46±0,18	8,05±0,036	7,56±0,38	8,12±0,68

Примітка * Номерація композицій відповідно до табл. 4.5



а)



б)

Рис. 4.10 Зміна чисельності мікроорганізмів в різних поживних середовищах: а) МКБ; б) ББ

4.5 Підбір захисного середовища для зберігання біомаси функціональних добавок

Ліофілізація є поширеним і надійним способом збереження мікроорганізмів. Вона дозволяє підтримувати мікроорганізми тривалий час без пересівань, що важливо, оскільки постійні пересівання призводять до зміни властивостей мікроорганізмів [386].

Практика розробки захисних середовищ свідчить, що для мінімізації загибелі клітин склад кріопротектора для кожного виду бактерій повинен включати збалансований якісно і кількісно набір компонентів. При цьому істотне значення мають кількість клітин в бактеріальній суспензії, її евтектичних параметри, а також характер температурного впливу при заморожуванні і зневодненні [61, 185].

Уніфікація захисних середовищ, що застосовуються у виробництві пробіотиків, передбачає обмеження кількості використовуваних компонентів, необхідних у складі кріопротекторів для жорстких режимів сублімації. При таких режимах висушування негативний біологічний і структуродеформуючий ефект нівелюється, як правило, збільшенням концентрації кріопротектора в бактеріальній суспензії. При цьому домогтися поліпшення структури сухої біомаси значно складніше, ніж отримати необхідну кількість живих клітин у сухому препараті.

Підбір варіантів захисних середовищ базувався на результатах попередніх досліджень.

Було досліджено вплив складу захисних середовищ на виживання мікроорганізмів після сушіння та впродовж зберігання за різних температурних умов. Для цього використовували біомасу композицій K5, K11, K18, відокремлену від культуральної рідини шляхом центрифугування. Концентрат бактеріальної маси змішували у співвідношенні 1:2 із захисними середовищами, характеристику яких представлено у табл. 4.8

Таблиця 4.8

Склад захисних середовищ

Варіант	1	2	3	4	5	6
Компоненти	вміст у захисному середовищі, %					
Сухе знежирене молоко	10,0	-	5,0	5,0	-	5
Цитрат натрію	0,2	-	-	5,0	2,0	-
Сахароза	1,0	15,0	10,0	15,0	10,0	25,0
Гідрокарбонат натрію	-	3,0	-	-	-	-
Трегалоза	7,0	-	7,0	-	-	7,0
Три-сол	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Желатин	-	-	5,0	-	-	3,5
Вода	88,8	79,5	74,5	72,5	85,5	63,0
Активна кислотність, од. рН	7,4	6,9	6,8	7,2	6,9	6,7

До їх складу було введено сполуки, які підвищують стійкість молочнокислих бактерій до заморожування та сушіння: білкові (СЗМ) та вуглеводні компоненти (сахароза, трегалозу), а також солі (цитрат Na, гідрокарбонат Na). Відомо, що введення останніх позитивно впливає на розчинність бактеріальних препаратів. Додатково вводили Три-сол, як активатор росту композиції, для того щоб забезпечити належний рівень реактивації біомаси. Створені захисні середовища різнилися за величиною активної кислотності: додавання сполук з лужною реакцією підвищувало рівень рН.

Суспензії бактеріальних клітин заморожували за температури мінус (40 ± 1) °С упродовж (16 ± 2) год., після чого проводили сушіння в сублімаційній сушарці протягом (18 ± 2) год за таких режимів: початок сушіння - за температури мінус (25 ± 2) °С, закінчення - за температури плюс (30 ± 2) °С. Дослідження проводили у виробничих умовах Державного підприємства ІПР НААН. Якість отриманих бакпрепаратів оцінювали за показниками виживання лакто- та біфідобактерій за різних умов зберігання (табл. 4.9)

Результати досліджень показали, що всі варіанти захисних середовищ забезпечували належний протективний ефект. За структурою сухої біомаси

кращий результат відзначений у варіанту кріопротектора на основі желатину (табл. 4.9). З урахуванням комплексної ефективності захисної дії, а також усіх супутніх обставин, в тому числі економічного характеру, сахарозо-желатино-молочне середовище було визнано найбільш придатним до використання в якості виробничого кріопротектора.

Було встановлено, що досліджені захисні середовища розрізняються за своєю захисною дією щодо культур заквашувальних композицій.

Таблиця 4.9

Вплив ЗС на якість сухих бактеріальних концентратів

№ середовища *	Ступінь виживання, %					
	K5		K11		K18	
	МКБ	ББ	МКБ	ББ	МКБ	ББ
1	87,9	91,4	89,6	93,2	86,4	92,2
2	86,7	92,2	79,8	89,9	80,3	85,5
3	89,8	94,9	87,4	89,1	85,6	91,1
4	87,5	90,8	91,3	98,3	90,5	96,8
5	90,1	91,4	89,6	93,8	91,5	95,8
6	92,7	96,8	93,1	95,3	95,2	98,1
без ЗС (К)	74,9	80,3	75,5	84,9	77,1	84,8

Примітка. * Нумерація варіантів концентрату співпадає з нумерацією захисного середовища. Наведено середні значення; n=3, P≤0,05.

Лактобактерії були більш чутливими до заморожування та сублімаційного сушіння ніж біфідобактерії (табл. 4.9).

Так, після ліофілізації чисельність життєздатних МКБ у концентраті без ЗС зменшилась на 14,6 %, застосування ЗС у варіантах 1-6 призвело до їхньої втрати на (1,7-13,2) %. Ступінь виживання лактобактерій була найвищою у концентратах 3, 4, 6. Застосування захисних середовищ (за винятком варіанту 5) сприяло зменшенню втрат біфідобактерій на (0,8-3,7) %.

Отже, під час ліофілізації найліпший захисний ефект на композицію культур справляли ЗС 3, ЗС 4 і ЗС 6, які забезпечували виживання (95-98) % клітин. Проведені дослідження показали, що введення до складу захисних середовищ додаткового компоненту (Трі-сол) забезпечує високий ступінь виживання мікроорганізмів за ліофільного сушіння та реактивації..

Таким чином, охарактеризовані вище дослідження дозволили розробити і адаптувати до умов масового (великосерійного) виробництва спосіб стабілізації біомаси, що передбачає застосування ефективної універсального захисного середовища на основі желатинового агару з додаванням 7 % трегалози.

Отже, подані вище експериментальні результати свідчать про те, що для забезпечення максимального захисного ефекту під час сублімації та зберігання готового бактеріального препарату доцільно використовувати концентровані ЗС, які містять 30-32 % сухих речовин.

Враховуючи опрацьовані технологічні режими, у напівпромислових умовах було вироблено три партії функціональних добавок для сільськогосподарських тварин. Схему технологічного процесу виробництва сухих бакпрепаратів представлено на рис. 4.11.

Результати роботи опубліковано в [77, 97, 152]. Ефективний спосіб консервування біомаси захищено патентом на винахід [108].

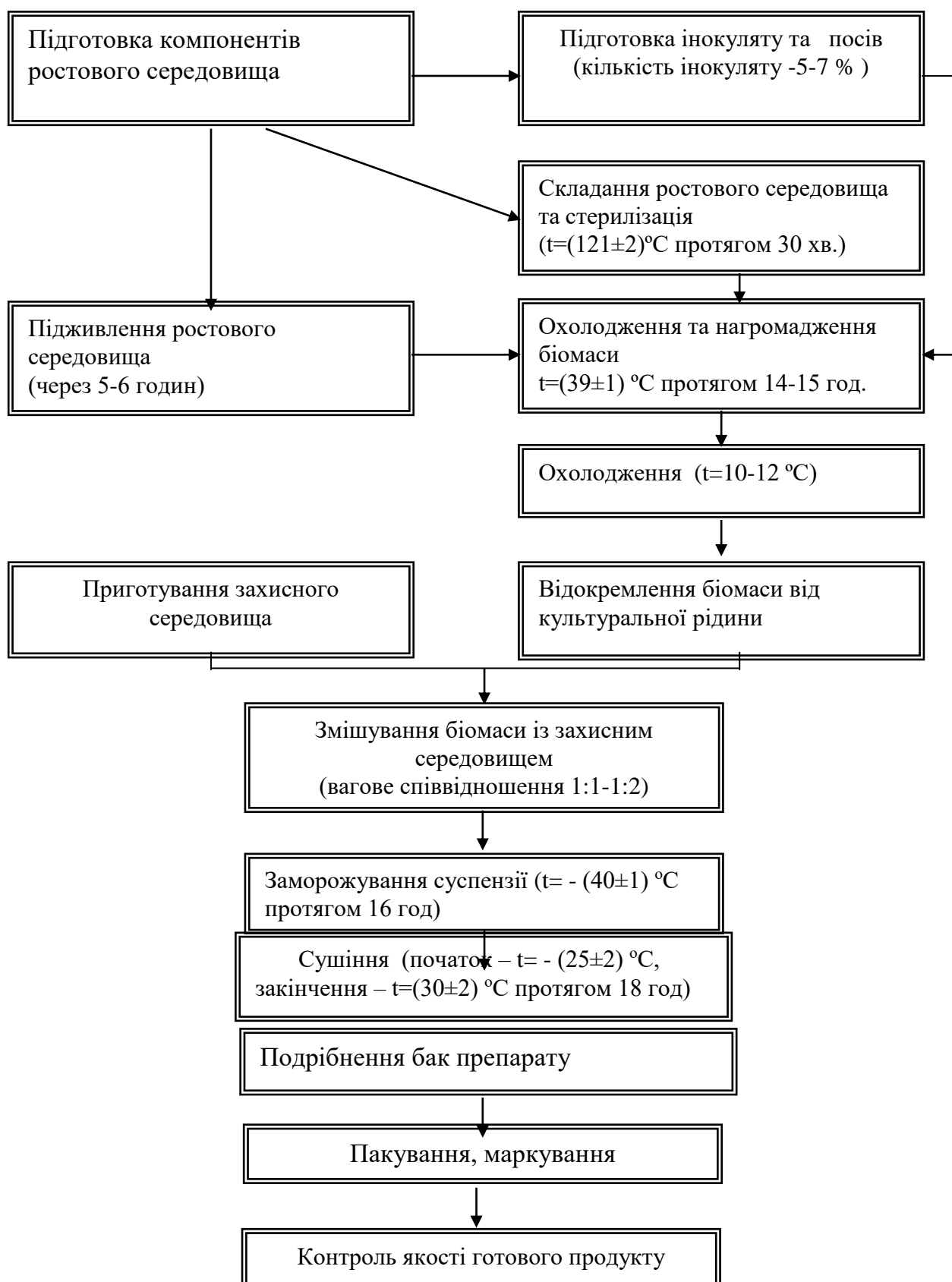


Рис. 4.11. Схема технологічного процесу одержання функціональних добавок

Кількість інокуляту була 6 % від об'єму ростового середовища, тривалість нарощування біомаси за температури $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ при культивуванні композицій - 14 годин, центрифугування біомасу змішували у пропорції 1:2 із захисним середовищем, що містило 10 % сахарози, 5 % сухого знежиреного молока, 7 % трегалози, 5% желатину та 2,5 % вітамінно-мінеральної суміші Три-соль. Висушені композиції було проаналізовано за основними показниками якості, що представлені у табл. 4.10.

Таблиця 4.10

Основні біотехнологічні показники функціональних добавок

Назва показника	Характеристика добавки		
	БК-Т	БК-П	БК-Пт
Вихід сирої біомаси із ферментера, г/75 л	1570 \pm 250	1820 \pm 170	1740 \pm 210
Співвідношення між БМ та ЗС	1:2		
Загальна кількість молочнокислих мікроорганізмів, КУО/г	$(2,8 \pm 1,14) \cdot 10^{11}$	$(3,8 \pm 2,2) \cdot 10^{11}$	$(3,4 \pm 2,14) \cdot 10^{11}$
Загальна кількість біфідобактерій, КУО/г	$(3,4 \pm 2,25) \cdot 10^{11}$	$(2,1 \pm 1,1) \cdot 10^{11}$	$(4,1 \pm 1,8) \cdot 10^{11}$
БГКП (коліформи), в 1 г	Відсутні	Відсутні	Відсутні
Дріжджі та плісняви, в 1 г	Відсутні	Відсутні	Відсутні
Активність бакпрепарату: - тривалість сквашування молока, год. - титрована кислотність через 3 год., °Т	6,5 \pm 0,5	7 \pm 0,5	7,5 \pm 0,5
	35 \pm 2,5	35 \pm 5,6	32 \pm 2,1
Масова частка вологи, %	4,3\pm0,2		

Одержані бактеріальні концентрати мали вигляд однорідної порошкової маси кремового або світло-коричневого кольору без запаху, солодкуваті на смак. В 1 г препарату містилося молочнокислих мікроорганізмів $(1,4-1,8) \cdot 10^{11}$ КУО/г та біфідобактерій $(1,2-2,1) \cdot 10^{11}$ КУО/г. Активність 1 г концентрату в 1 л молока за температури 37 °C була

наступною: МЗА ($7,0 \pm 2,5$) год і титрована кислотність через 3 год експозиції у термостаті – $(35 \pm 5) ^\circ\text{T}$.

Було проаналізовано здатність до зберігання отриманих заквашувальних препаратів за різних температурних режимів: від 2 до 6 $^\circ\text{C}$ та від мінус 18 до мінус 20 $^\circ\text{C}$, відносна вологість повітря – 85%. Якість бактеріальних культур перевірялася за чисельністю мікроорганізмів (табл. 4.11).

Таблиця 4.11

Здатність до зберігання функціональних добавок

Термін зберігання	БК-Т		БК-П		БК-Пт	
	Чисельність, КУО/г		Чисельність, КУО/г		Чисельність, КУО/г	
	МКБ	ББ	МКБ	ББ	МКБ	ББ
за температури від 2 до 6 $^\circ\text{C}$						
6 місяців	$(8,2 \pm 0,04) \cdot 10^{10}$	$(8,4 \pm 0,02) \cdot 10^{10}$	$(1,1 \pm 0,02) \cdot 10^{11}$	$(9,3 \pm 0,03) \cdot 10^{10}$	$(1,7 \pm 0,01) \cdot 10^{11}$	$(5,5 \pm 0,06) \cdot 10^{10}$
9 місяців	$(5,9 \pm 0,02) \cdot 10^{10}$	$(3,1 \pm 0,09) \cdot 10^{10}$	$(9,4 \pm 0,02) \cdot 10^{10}$	$(5,6 \pm 0,06) \cdot 10^{10}$	$(5,7 \pm 0,05) \cdot 10^{10}$	$(1,2 \pm 1,71) \cdot 10^{10}$
12 місяців	$(1,8 \pm 2,71) \cdot 10^{10}$	$(8,3 \pm 0,07) \cdot 10^9$	$(5,2 \pm 0,22) \cdot 10^{10}$	$(1,1 \pm 1,24) \cdot 10^{10}$	$(2,3 \pm 1,06) \cdot 10^{10}$	$(4,0 \pm 2,3) \cdot 10^9$
за температури від мінус 18 до мінус 20 $^\circ\text{C}$						
6 місяців	$(1,3 \pm 0,09) \cdot 10^{11}$	$(8,6 \pm 0,11) \cdot 10^{10}$	$(1,2 \pm 0,03) \cdot 10^{11}$	$(1,0 \pm 0,05) \cdot 10^{11}$	$(1,8 \pm 0,03) \cdot 10^{11}$	$(8,0 \pm 0,11) \cdot 10^{10}$
12 місяців	$(4,8 \pm 1,487) \cdot 10^{10}$	$(2,6 \pm 1,07) \cdot 10^{10}$	$(8,6 \pm 0,22) \cdot 10^{10}$	$(7,9 \pm 0,79) \cdot 10^{10}$	$(7,1 \pm 0,74) \cdot 10^{10}$	$(5,2 \pm 1,78) \cdot 10^{10}$
18 місяців	$(2,8 \pm 1,01) \cdot 10^{10}$	$(1,2 \pm 1,24) \cdot 10^{10}$	$(3,4 \pm 1,04) \cdot 10^{10}$	$(2,1 \pm 2,25) \cdot 10^{10}$	$(3,7 \pm 1,55) \cdot 10^{10}$	$(1,1 \pm 2,08) \cdot 10^{10}$

Отримані дані свідчать, що ефективнішим було зберігання бакпрепаратів за від'ємних температур, забезпечуючи загальну чисельність лактобактерій на рівні $4,8 \cdot 10^{10}$ КУО/г та кількість біфідобактерій близько

$1,2 \cdot 10^{10}$ КУО/г через 18 місяців, тоді як при зберіганні за температур від 2 до 6 °С аналогічні показники препарати мали вже через 9 місяців з дати виготовлення.

Експериментально встановлено, що термін придатності до споживання сухих бакпрепаратів не повинен перевищувати за температури від 2 до 6 °С – 9 місяців, від мінус 18 до мінус 20 °С – 18 місяців.

За результатами проведеної роботи розроблено нормативну документацію на виробництво “Пробіотики ТІММ для сільськогосподарських тварин» ТУ У 10.9-00419880-135-2017– додаток Г. 1; Г. 2.

Технологія продукту БК-Пт захищена патентом на винахід [108] (Додаток Е.7), а найважливіші результати проведених досліджень висвітлено у статті [86].

Виробництво бактеріальних препаратів налагоджено на ДДП ІПР НААН, де за період з 2015 вироблено 18 кг функціональної добавки для поросят. Відповідно акти впровадження представлено у додатку Д. 1.

Висновки до розділу 4

1. Модифікованим нами методом “лунок” визначено характер взаємовідносин між селекціонованими штамами різних таксономічних груп, що дозволило відібрати як перспективні 72 двукомпонентні композиції біфідо- та лактобактерій. На основі цих композицій створено трьох- та чотирьохштамові комбінації; з них відібрано 18 комбінацій, які за спільного культивування є не тільки сумісними, а й стимулюють одна одну.

2. Рекомендовано як промотори росту досліджуваних культур використовувати премікси ФІЗ та Три-соль. Урожайність молочнокислих бактерій за їх додавання зростала у 12,5 рази, а біфідобактерій у 6,4 рази порівняно з початковим вмістом. Встановлено, що для нагромадження МКБ оптимальна концентрація глюкози – 2,5 %, лактози – 1 %, для ББ 2 % та 1 % відповідно.

3. Було визначено оптимальні для композицій “БК-П”, “БК-Т” та “БК-Пт” біотехнологічні параметри нагромадження біомаси: постадійне внесення інокуляту та вуглеводу, сушіння та зберігання біомаси. Визначено співвідношення між компонентами композиції 1:1:1:1, компоненти поживного середовища - гідролізат знежиреного молока, оскільки воно технологічне, має невисоку вартість. Визначено можливі джерела вуглеводного живлення (глюкоза та лактоза) і їх кількість 1 % в поживному середовищі.

4. Визначено остаточний склад поживних середовищ для культивування мікробних композицій. Опрацьовано технологічні параметри їх культивування: температура – (37 ± 1) °C; кислотність ростового середовища – рН 6,5-6,6; тривалість періодичного культивування – 14 год.

5. Визначено склад захисного середовища для ліофільного сушіння біомаси – желатин, цукроза, сухе знежирене молоко, три-сол, трегалоза; співвідношення біомаси до захисного середовища – 1:2. Застосування розробленої технології дозволило отримати вихід сухого бактеріальних препаратів з чисельністю клітин молочнокислих бактерій в 1 г $1,0 \cdot 10^{11}$ КУО та $1,0 \cdot 10^{11}$ КУО біфідобактерій. Встановлено термін придатності до споживання сухих бакпрепаратів: за температури від 2 до 6 °C – 9 місяців, від мінус 18 до мінус 20 °C – 18 місяців.

6. Біотехнологію бактеріального препарату “БК-П” апробовано і впроваджено на ДДП ІПР НААН. Дослідно-промислова перевірка засвідчила відповідність одержаних партій препарату вимогам НД (Додаток Д.1).

РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ДОБАВКИ «БК-ПТ» НА ІНТЕНСИВНІСТЬ РОСТУ КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ

Птахівництво і виробництво м'яса птиці в останні роки стало провідним в м'ясному секторі тваринництва України. Але ще на початку 90-х виробництво м'яса птиці складало не більше 13-17 % в загальній структурі виробництва м'яса - насамперед значне поголів'я птиці формувало виробництво яєць; при цьому в сільськогосподарських підприємствах було зосереджено 54 % поголів'я і відповідно 46 % - в господарствах населення. За короткий час тільки птахівництво здатне забезпечити споживчий ринок недорогою м'ясною сировиною [64, 116].

Одним з основних завдань галузі птахівництва є підвищення продуктивності птиці і рентабельності виробництва. Це завдання вирішується за рахунок більш високої ефективності використання поживних речовин корму.

З метою профілактики шлунково-кишкових захворювань молодняку птиці застосовують пробіотичні препарати. Корисні мікроорганізми, які входять до складу цих препаратів, захищають від уражень патогенних і умовно - патогенних бактерій, знешкоджують токсини, виводять з організму важкі метали, радіонукліди, синтезують вітаміни, нормалізують мінеральний обмін [307, 354].

Додавання до основного раціону птиці пробіотиків також дозволяє не тільки підвищити ефективність виробництва, але і гарантовано отримати екологічно безпечну для людини продукцію [114].

Функціональна добавка БК-Пт - це комплекс мікроорганізмів різних видів молочнокислих, біфідобактерій, кишкового походження, які виділені від курей різного віку. БК-Пт – це сипучий порошок, без сторонніх включень, від кремового до світло-коричневого кольору та має масову частку вологи не більше 5 %, добре розчиняється у воді, легко змішується з кормом. Кількість

молочнокислих бактерій складає $1 \cdot 10^{10}$ КУО/см³, біфідобактерій $-1 \cdot 10^{10}$ КУО/г. БК-Пт має полікомпонентний склад - містить 4 високоактивні штами: *B. pullorum* 4601, *L. plantarum* 3207, *L. paracasei* 3800, *L. rhamnosus* 3333. Це дозволило об'єднати в одному препараті різні пробіотичні властивості (широкий спектр антагоністичної активності щодо умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів; адгезивну властивість, вітамінсинтезуючу здатність та ін.). Вказані штами - природні мікроорганізми, які не підлягали будь якій генетичній модифікації, активно синтезують різні ферменти, що сприяють покращенню травлення. Основні характеристики культур наведені у розділі 3.

Мета досліджень полягала у встановленні раціональної дози функціональної добавки БК-Пт, яка збільшує продуктивність, збереженість курчат-бройлерів, поліпшує якість продукції і сприяє підвищенню рентабельності.

Виробничі випробовування проводили в першому кварталі 2013 року на НВП «УКРВАК», Київська обл., Броварський р-н, с. Княжичі (Додаток). Проведено дослід з встановлення ефективної дози функціональної добавки БК-Пт та проведено виробничу перевірку. Для встановлення раціональної дози функціональної добавки БК-Пт було сформовано 4 групи з добових курчат-бройлерів кросу " Кобб-500 » по 50 голів у кожній групі, подібних за живою масою і клініко-фізіологічним станом. Умови утримання курчат були аналогічними для всіх груп. Схема дослідів представлено в розділі 2 та Додатку 3.1.

Курчат-бройлерів вирощували до 38 - денного віку на підстилці.

Функціональну добавку курчатам-бройлерам застосовували за наступною схемою: Перша група була контрольною - не додавали. Курчатам 2 дослідної груп давали 0,5 г функціональної добавки на 1 кг комбікорму (дослід 2); 3 дослідній групі давали 1 г функціональної добавки на 1 кг комбікорму (дослід 3); 4 дослідній групі давали 2 г функціональної добавки на 1 кг комбікорму (дослід 4).

Функціональну добавку додавали до складу комбікорму на підприємстві змішуючи у ручну безпосередньо перед годуванням птиці трьома курсами, а саме: 1—5 діб, з 21—25 та 31—38 добу. Вся птиця піддавалася ветеринарно-профілактичним заходам у відповідності зі схемою, прийнятої на птахофабриці [329].

5.1 Визначення зоотехнічних показників

На першому етапі визначали зоотехнічні показники вирощування курчат-бройлерів.



Рис. 5.1. Фото добових курчат-бройлерів кросу "Кобб-500 »

Основні зоотехнічні показники вирощування курчат-бройлерів представлені в таблиці 5.1. Встановлено, що додавання до раціону бройлерів функціональної добавки БК-Пт сприяло збільшенню їх живої маси. Так, у 2-й групі збільшення склало 5,5 % , в 3 -й – 11,6 %, а в 4 -й – 5,6 %

Середньодобовий приріст у всіх дослідних групах був вищим ніж у контролі та склав 54,8-57,9 г проти 51,9 г в контрольній групі.

В результаті застосування функціональної добавки БК-Пт збільшилася і збереженість курчат-бройлерів з 90 % (контрольна група) до 96% (3-тя і 4- я групи).

Витрати корму у всіх дослідних групах були нижче даного показника в контрольній групі : у 2 -й - на 1,7 % , в 3 -й - на 6,4 % і в 4 -й - на 5,8 %.

Таблиця 5.1

Зоотехнічні показники вирощування курчат-бройлерів за 38 днів ($M \pm m$; $n = 50$)

Показники	Групи						
	1	2 дослідна	Порівняння дослід/контроль	3 дослідна	Порівняння дослід/контроль	4 дослідна	Порівняння дослід/контроль
Середня жива маса добового курчати, г	40,3 \pm 0,12	40,2 \pm 0,11		40,1 \pm 0,10		40,3 \pm 0,09	
Середня вага 1 гол., г	1975,3 \pm 22,4	2084,8 \pm 24,4	+109,5	2198,4 \pm 21,6*	+223,1	2083,2 \pm 22,5*	+107,9
Середньодобовий приріст, г	51,9	54,9	+3	57,9	+6	54,8	+2,9
Витрати корму на 1 кг приросту живої маси, кг	1,73	1,70	-0,03	1,62	-0,11	1,63	-0,1
Збереження, %	90,0	92,0	+2	96,0	+6	96,0	+6
Індекс продуктивності, од.	270,42	296,91	+9,8	342,83	+26,8	322,87	+19,4

Середньодобовий приріст у всіх дослідних групах був вищим ніж у контролі та склав 54,8-57,9 г проти 51,9 г в контрольній групі (рис. 5.2).

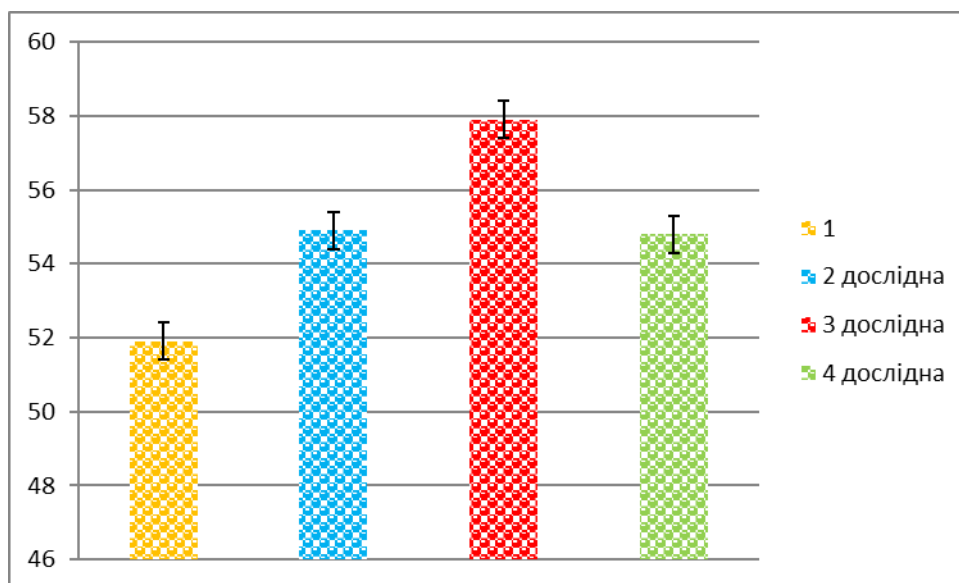


Рис. 5.2. Середньодобові прирости курчат бройлерів за період вирощування 1-38 добу.

Ефективність вирощування бройлерів оцінювали за європейським індексом продуктивності (TBG). У дослідних групах він склав 296,91-342,83 од. Найвищий показник індексу продуктивності отримано в 2-й дослідній групі – 342,83 од. [55, 104].

5.2 Морфологічні та біохімічні показники крові курчат-бройлерів

На другому етапі дослідження визначали морфологічні та біохімічні показники крові птиці. Кров найбільш чітко показує різні біохімічні і фізіологічні процеси, що відбуваються в організмі, тому швидкість і величину обмінних процесів можна побічно визначити по зміні кількості метаболітів крові.

Однією із найважливіших фізіологічних систем, що бере безпосередню участь у всіх обмінних функціях, є кров, а її морфологічні і біохімічні показники в значній мірі відображають інтенсивність обмінних процесів в

організмі птиці і тому мають тісний зв'язок з ростом, розвитком, продуктивністю і природною резистентністю курей. Еритроцити або червоні кров'яні клітини у птахів відносно мають більші розміри, ніж у ссавців, вони довгасто-овальної форми і мають ядра та складають основну масу клітин крові. Функції еритроцитів різноманітні – перенесення кисню від органів дихання до тканин організму і вуглекислого газу від тканин до легень. Крім того, вони абсорбують із плазми амінокислоти, вітаміни, гормони і переносять їх з током крові, підтримують рН крові на постійному рівні, беруть участь в становленні процесу імунітету, здійсненні механізму згортання крові, адсорбують на своїй поверхні різні токсичні речовини [19, 171].

Отримані нами морфологічні та біохімічні показники крові курчат-бройлерів знаходились в межах фізіологічної норми (табл. 5.2) [104].

Таблиця 5.2

Морфологічні та біохімічні показники крові курчат-бройлерів

(вік - 38 діб; $M \pm m$; $n = 5$)

Показники	Норма за Верещак Н.А. та Кудрявцеву А.А. для курчат- бройлерів 30-42 денного віку	Групи			
		1	2	3	4
Еритроцити, $10^{12}/\text{дм}^3$	2,81	$2,61 \pm 0,02$	$2,73 \pm 0,02$	$2,85 \pm 0,01$	$2,93 \pm 0,03$
Гемоглобін, $\text{г}/\text{дм}^3$	86,4	$81,0 \pm 0,36$	$95,32 \pm 0,49$	$97,44 \pm 0,25$	$98,21 \pm 0,36$
Лейкоцити, $10^9/\text{дм}^3$	29,42	$28,26 \pm 0,33$	$29,25 \pm 0,27$	$29,47 \pm 0,27$	$28,49 \pm 0,36$
Загальний білок, $\text{г}/\text{дм}^3$		$43,24 \pm 10,22$	$44,50 \pm 0,32$	$46,57 \pm 0,26$	$45,11 \pm 0,38$
БАСК, %		$41,12 \pm 0,40$	$45,62 \pm 0,46$	$46,54 \pm 0,72$	$45,94 \pm 1,01$
ЛАСК, %		$30,14 \pm 0,5$	$33,61 \pm 0,59$	$36,18 \pm 0,76$	$35,84 \pm 0,81$

Аналізуючи дані таблиці 5.2 можна відзначити, що в досліді у курчат як контрольної, так і дослідних груп показники знаходилися в межах фізіологічної норми. Вміст загального білка в контрольній та дослідних групах було в межах фізіологічної норми [17].

За даними [235, 313] основними функціями лейкоцитів є участі їх в захисних і відновних процесах організму, зокрема фагоцитозі, продукуванні імунно-протективних речовин, видаленні токсинів з організму.

Так, якщо середня фізіологічна норма лейкоцитів для курчат в одиниці об'єму крові дослідних курчат становить $29,42 \cdot 10^9/\text{дм}^3$, то у контрольній групі вона становила - $28,26 \cdot 10^9/\text{дм}^3$, що на 3,4 % менше, у 2 дослідній відповідно – $29,25 \cdot 10^9/\text{дм}^3$, або на 0,571 %, у 3-тій дослідній – $29,47 \cdot 10^9/\text{дм}^3$, або була вищою на 0,17 %, у 4-ій дослідній - $28,49 \cdot 10^9/\text{дм}^3$, або нижчою на 3,2 % [104].

Кількість лейкоцитів у крові була нижче середнього фізіологічного рівня у трьох групах, за винятком третьої дослідної групи, що очевидно є результатом недостатньої сформованості захисних механізмів організму. Разом з цим, відмічено деяке підвищення кількості лейкоцитів у курчат третьої дослідної групи на 0,17 %, у порівнянні нормою.

Кількість еритроцитів було вище в дослідних групах на 4,6 % (2-а група), 9,2 % (3-я) і 12,7 % (4-а) в порівнянні з контрольною групою [104].

Гемоглобін відноситься до білкових речовин – хромопротеїдів. Це дихальний пігмент крові, який міститься в еритроцитах. Він утворює з киснем нестійку і легко дисоціюючу сполуку – оксигемоглобін, в складі якого кисень транспортується до тканин. Вміст гемоглобіну в крові залежить від виду, віку, статі і стану здоров'я птиці. Кількість гемоглобіну в крові є показником інтенсивності окисно-відновних процесів [19].

Результати досліджень вмісту гемоглобіну в крові курчат наведені в табл. 5.2 Аналіз цих даних показує, що використання функціональної добавки «БК-Пт» сприяє деякому підвищенню кількості гемоглобіну порівняно з контролем. Рівень гемоглобіну був вищий у всіх дослідних групах: у 2-й - на 17,7 %, в 3-й - на 20,3 % ($P < 0,05$), в 4-й - на 21,2 % ($P < 0,05$) в порівнянні з контролем [104].

Отже при вирощуванні курчат в дослідних групах спостерігається деяке зростання вмісту гемоглобіну в крові, що свідчить про більш інтенсивніший перебіг окисно-відновних процесів в організмі курчат, які отримували функціональну добавку.

При дослідженні сироватки крові на вміст загального білку нами було встановлено підвищення показників білкового обміну в дослідних групах. Так, рівень загального білку в дослідних групах коливався від 44,5 г/дм³ до 46,57 г/дм³. Найбільша його значення відзначено в 3-й дослідній групі - 46,57 г/л ($P < 0,05$), що на 7,7 % вище ніж у контролі, це можна пояснити поліпшенням показників білкового обміну [104].

Бактерицидна активність сироватки крові (БАСК) є сумарним показників неспецифічної резистентності організму курчат- бройлерів, у всіх дослідних групах вона мала показники вищі, ніж у контролі. Так, у 2-й групі - на 10,9 %, в 3-й - на 13,2 % ($P < 0,01$) і в 4-й - на 11,7 % ($P < 0,05$).

Відомо, що кров володіє бактериостатичною здатністю по відношенню до мікроорганізмів. Дана здатність обумовлена вмістом в сироватці лізоциму, комплементу, інтерферону та ін. Вірогідним діагностичним показником неспецифічної стійкості організму є збільшення лізоцимной активності сироватки крові, що свідчить про підвищення природних захисних сил організму [262].

Лізоцимна активність - це здатність лізоциму гідролізувати β -глікозидний зв'язку полісахаридів клітинної стінки бактерій, що веде до її лізису і пригнічення росту грампозитивних бактерій. За даними [44] лізоцим синтезується і секретується моноцитами і макрофагами. Лізоцимна активність сироватки крові (ЛАСК) мала таку ж тенденцію до збільшення порівняно з контролем та була вищою на 10,12 % (2-га група) і 18,5 % (3-тя) та 17,4 % (4-та). Підвищення цих показників у сукупності з іншими факторами імунітету забезпечило більш високу збереженість птиці [104].

Таким чином, досліджувана функціональна добавка БК-П за даними досліджень сироватки крові позитивно впливала на біохімічні процеси, що відбуваються в організмі бройлерів.

5.3 М'ясна продуктивність і хімічний склад м'яса курчат-бройлерів

М'ясна продуктивність при вирощуванні курчат бройлерів — це головний показник і кінцева мета виробництва [37].

Для виявлення впливу різних дозувань функціональної добавки БК-Пт на м'ясну продуктивність курчат-бройлерів в кінці вирощування провели контрольний забій 5 голів курчат-бройлерів з кожної групи, отримані результати представлені в таблиці 5.3.

Таблиця 5.3

М'ясні якості тушок

<i>Показники</i>	<i>Групи</i>			
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
Передзабійна маса, г	2064±66,57	2096,4±52,75	2199,56±83,43	2185,15±70,94
Маса патраної тушки, г	1504,8±20,11	1533,0±32,29	1619,32±49,59	1606,6±33,37
Забійний вихід, %	72,9	73,2	73,6	73,5
Маса їстівних частин, г	1204,8±34,24	1235,56±72,64	1317,56±61,27	1296,7±28,88
Маса неїстівних частин, г	598,63±80,42	595,23±57,15	603,16±20,56	613,16±43,31
Співвідношення їстівних частин до неїстівних	2,01	2,06	2,19	2,11
Маса філе, г	319,1±7,34	354,52±5,42	394,7±6,79	381,81±12,64
Маса кісток, г	299,13±9,06	297,79±6,6	301,4±6,45	303,3±5,71
Маса внутрішнього жиру, г	23,15±0,64	23,42±0,35	24,31±0,59	24,41±0,59

Нормалізація фізіологічних процесів в організмі курчат під впливом різних концентрацій функціональної добавки БК-Пт відбилася на їх рості і розвитку. Жива маса була вищою у всіх дослідних групах, ніж у контрольній.

Як видно з таблиці 5.3 додавання функціональної добавки БК-Пт до основного раціону сприяло збільшенню передзабійної маси курчат-бройлерів. Так, у 2 -й групі - в 3 -й і 4 -й групах - 1,6 % 6,6 % і 5,9 % відповідно. Маса патраної тушки у всіх дослідних групах була також вищою вказаного показника контрольної групи - на 1,9 % 7,6 % та 6,4 % відповідно у 2-й, 3-й та 4 -й дослідних групах. Вищі показники маси патраної тушки і передзабійної маси зумовлюють більший забійний вихід у дослідних групах - від 73,2 до 73,6 %. Слід зауважити, що найвищі значення було отримано в 3-й дослідній групі [104].

Отже, для підвищення швидкості росту курчат-бройлерів рекомендується згодовувати функціональну добавку БК-Пт. Результати проведеного забою свідчать, що використання добавки позитивно впливає на підвищення забійного виходу патраних курчат.

Маса внутрішнього жиру у курчат незначно відрізнялася між дослідними групами і контролем і була в межах від 23,15 г до 24,41 г. Функціональна добавка БК-Пт впливає на відкладання внутрішнього жиру.

Маса їстівних і неїстівних частин, а також їх співвідношення є цінними показниками, які доповнюють картину м'ясних якостей тушок курчат-бройлерів. Найбільші показники маси їстівних частин були отримані в 3 -й і 4 -й дослідних групах. Так, вони склали 1317,56 г- 1296,7 г що вище рівня контрольної групи на 112,8 г і 92,5 г ($P < 0,01$), відповідно в 3 -й і 4 -й дослідних групах (рис. 5.3).

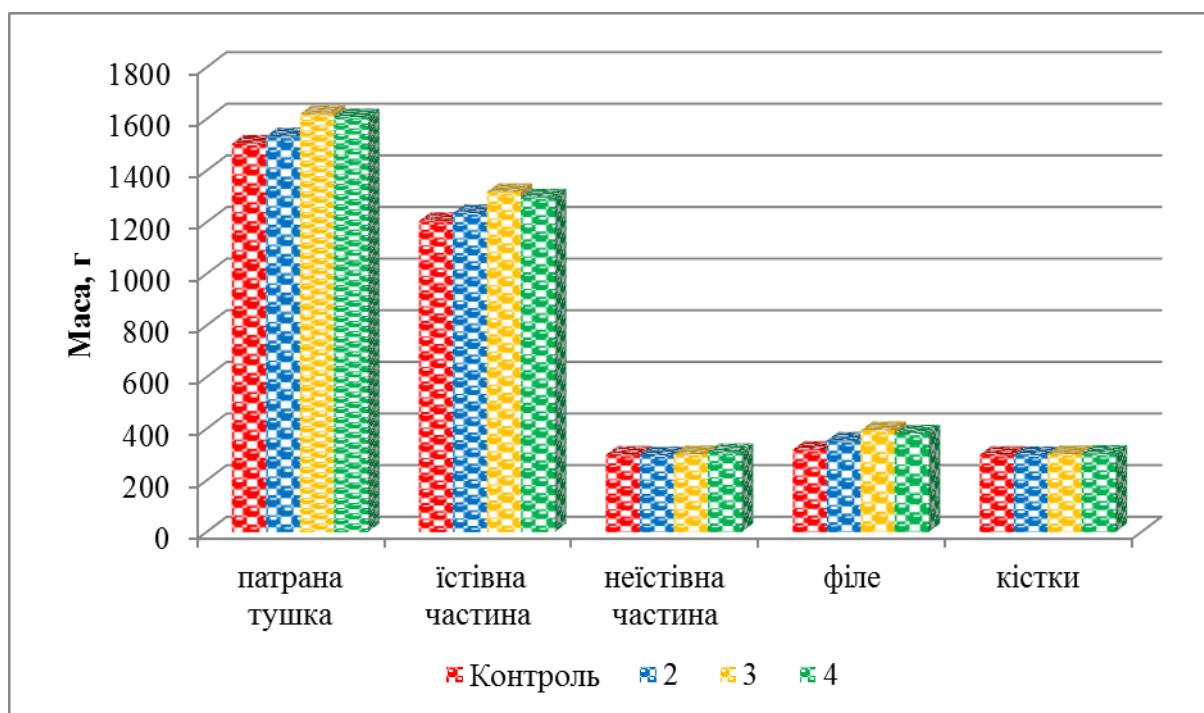


Рис. 5.3. Морфологічний склад тушок курчат-бройлерів

Підвищення маси їстівних частин у дослідних групах в основному обумовлено збільшенням маси м'язів (у т.ч. і філе), маса неїстівних частин представлена - масою кісток.

Маса грудних м'язів у контролі (319,1 г) менше в порівнянні з 2 дослідної на 35,42 г, або 11,1 % ($P < 0,05$), - на 75,6 г, або 23,7% в порівнянні з 3 дослідної групою і на - 62,71 г, або 19,7 % порівняно з 4 дослідною групою [56].

Співвідношення їстівних частин тушки до неїстівних в контролі менше в порівнянні з 2 дослідною групою на 4 %, з 3 дослідною - на 18 % і на 10 % з 4 дослідною групою [56].

Хімічний склад та енергетична цінність є необхідними показниками якості м'яса. Об'єктивна і всебічна оцінка даних показників є необхідною основою для виявлення факторів, які впливають на якість продукції. Хімічний склад та енергетична цінність м'яса дослідної та контрольної птиці наведені в (таблиці 5.4).

Таблиця 5.4

Хімічний склад (%) і енергетична цінність м'язів курчат-бройлерів

Показники	Групи			
	1	2	3	4
Біле м'ясо				
Волога, %	75	73,4	73,8	73,5
Протеїн, %	19,94	21,87	23,08	21,84
Жир, %	4,32	3,44	3,31	3,82
Зола, %	0,94	1,29	0,81	0,84
a_w , од. a_w ,	0,997	0,996	0,996	0,995
pH , од pH	6,22	6,12	5,97	6,02
Енергетична цінність, ккал	110,72	118,44	117,27	121,74
Ніжка				
Волога,%	71	70,4	68,6	69,5
Протеїн,%	15,65	16,92	19,01	18,19
Жир, %	12,49	11,46	10,26	11,38
Зола, %	0,86	1,22	2,13	0,93
a_w , од. a_w ,	0,993	0,995	0,990	0,990
pH , од pH	6,4	6,38	6,2	6,25
Енергетична цінність, ккал	175,01	170,82	168,38	175,18

З приведених даних видно(табл. 5.4), що достовірної різниці між групами не встановлено, проте м'язова тканина курчат дослідних груп відрізняється від контрольної меншим вмістом води, жиру і зольних, але більшим вмістом - протеїну. Так, вміст протеїну в грудних м'язах у курчат 3-ї групи склав 23,08 %, що на 3,14 % вище, ніж в 1 -й, і на 0,96 %, ніж у 2-й групі [272].

Вміст протеїну в ніжках був на рівні 15,65-19,01 %. При цьому вміст протеїну 3 третій дослідній групі був вищим від контрольної на 21,5 %.

Відомо [177], що жирова тканина повинна знаходитися в певному співвідношенні з м'язовою, за високого вмісті жиру зменшується вміст протеїну в м'ясі, а також знижується засвоюваність м'яса. У наших дослідженнях вміст жиру в м'язовій тканині курчат контрольної групи був вищим, ніж в дослідних групах.

Чим більше м'язової тканини міститься в м'ясі, тим більшою поживною цінністю воно володіє та є одним з показників оцінки якості м'яса. Енергетична цінність білого м'яса була вищою у курчат дослідних груп, порівняно з контрольною - на 6,9 % у 2 дослідній; на 5,9 % у 3 дослідній та на 9,9 % у 4 дослідній групі.

Таким чином, введення функціональної добавки, до складу основного раціону курчат дозволило знизити вміст вологи та збільшити вміст протеїну у м'язовій тканині та енергетичну цінність.

Уміст жиру у білому м'ясі у першій та четвертій групі був на рівні 4,32-3,83 %. Найнижча частка жиру – 3,31 % була в філе 3-ї дослідної групи.

Рівень жиру в ніжках досліджуваних груп склав 10-26-12,49 %. Було помічено, що у дослідних групах рівень жиру у філе і ніжках був нижчим порівняно з даними, отриманими в контролі.

Слід зазначити, що невисока жирність м'яса курчат бройлерів, вирощених з додаванням функціональної добавки БК-Пт, цілком відповідає біологічним вимогам дієтичного харчування.

Вміст золи в м'ясі ніжки першої та четвертої груп склало 0,86-0,93 %, третьої та четвертої 1,22 % та 2,13 %.

Подобні результати за хімічним складом вмісту м'язової тканини м'яса птиці були відмічені [117, 133].

Також нами були визначені показники активності води та рН м'яса. У результаті встановлено, що активність води м'яса бройлерів дослідних груп була дещо вище аналогічного показника в контрольній групі. Так, для філе вона коливалася в межах 0,995-0,997, а для ніжок – 0,990-0,993. Відзначено, що для філе цей показник був вищим порівняно з ніжками.

Додавання до основного раціону функціональної добавки БК-Тп сприяло зниженню значення показника рН. Встановлено, що рН філе курчат 3-ї дослідної групи був нижчим на 4 % ніж у контрольній.

Таким чином, використання функціональної добавки БК-Пт не погіршує хімічний склад м'язової тканини тушок курчат-бройлерів. За своїм складом м'ясо курчат-бройлерів - це якісний, багатий протеїнами продукт з більш низькою енергетичною цінністю, порівняно зі свининою та яловичиною [65, 133, 159].

5.4 Біологічна цінність

Біологічна цінність є одним з основних критеріїв якості. Вона виступає інтегральним показником для відображення різних властивостей м'яса, його хімічного складу, поживності, безпеки, специфічних властивостей. Цей термін характеризує якість білкового компоненту сировини, зумовлену як ступенем збалансованості складу амінокислот, так і рівнем перетравності та асиміляції білка в організмі [244].

Визначення ступеню розщеплення та засвоєння протеїнового компоненту м'яса в дослідних *in vitro* здійснювали з використанням вільчастої інфузорії *Tetrahymena pyriformis*, моделюючи у такий спосіб процес перетравлення білків у шлунково-кишковому тракті.

За основними етапами обмінних процесів вищі тварини і інфузорії подібні. Проте вища інтенсивність цих процесів у інфузорії сприяє тому, що вони швидше проявляють свою реакцію на продукт. Зміна поколінь відбувається 3-4 рази на добу, що дозволяє враховувати можливий вплив сировини на генетичний апарат клітини.

Порівняльна характеристика відносної біологічної цінності і ефективності використання білка дослідних і контрольних зразків м'яса бройлерів показана у таблиці 5.5.

Таблиця 5.5

**Характеристика відносної біологічної цінності ефективності дослідних
і контрольного зразків м'яса бройлерів**

<i>Показник</i>	<i>Групи</i>			
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
Біле м'ясо				
Вміст протеїну, %	21,54	21,87	23,08	22,84
Відносна біологічна цінність, % до еталону*	62,8	72,4	84,6	81,5
Біологічний потенціал номінального продукту, кг %	135,271	158,339	195,26	186,15
Токсичність, % патологічних форм клітин	0,3	0,2	0,2	0,1
Ніжка				
Вміст протеїну, %	19,65	19,92	20,81	20,59
Відносна біологічна цінність, % до еталону*	59,4	70,5	80,8	78,5
Біологічний потенціал номінального продукту, кг %	116,72	140,44	168,14	161,63
Токсичність, % патологічних форм клітин	0,4	0,2	0,1	0,2

Примітка «*» - як еталон використовували поживне середовище на основі казеїну

Із наведеної таблиці 5.5 видно, що найбільшою відотною біологічною цінністю характеризувалось біле м'ясо курчат третьої дослідної групи, яка на 34,7 % була вищою ніж у контрольній групі. Відносна біологічна цінність білого мяса курчат бройлерів другої та четвертої групи відповідно на 15,3 % та на 29,8 % перевищує значення у контрольній групі.

Токсичність (нешкідливість) досліджуваних зразків визначали за наявності загиблих інфузорій, зміни їх форми, характеру Проявів токсичності

для інфузорій не встановлено (в нормі кількість змінених форм клітин інфузорій становить від 0,1 до 1%). Отже, застосування функціональної добавки БК-Пт на біологічну цінність і нешкідливість продукту не впливає (рис.5.4)



а)



б)



в)

Рис. 5.4. Морфологія клітин інфузорії – *Tetrachylena pyriformis* за культивування у середовищах: а) контрольне середовище з казеїном; б) філе, в) ніжка.

Амінокислотний склад протеїну м'язів курчат-бройлерів включає 19 амінокислот (табл. 5.6). Рівень незамінних амінокислот відповідає еталону за білком яйця курячого.

Аналізуючи отримані результати, можна відзначити, що додавання до основного раціону функціональної добавки БК-Пт дозволило отримати тушки курчат-бройлерів з більшою біологічною цінністю м'яса.

Таблиця 5.6

Амінокислотний склад м'язів курчат-бройлерів, г в 100 г білку.

Амінокислота	Групи				Амінокислота	Групи			
	1	2	3	4		1	2	3	4
	Біле м'ясо					Ніжка			
Незамінні амінокислоти	37,35	36,4	38,57	37,62	Незамінні амінокислоти	35,22	38,2	38,9	37,5
В тому числі: Триптофан	1,3	1,4	1,3	1,42	В тому числі: Триптофан	1,42	1,5	1,4	1,4
Валін	4,1	4,2	4,22	4,65	Валін	3,9	4,8	3,9	4
Лейцин	7,2	7	7	7,16	Лейцин	7	7,5	7,4	7,2
Ізолейцин	4,2	4	4	3,9	Ізолейцин	4,1	3,9	4	4,1
Метіонін	1,8	2,2	1,5	2,54	Метіонін	2,9	2,6	2,7	2,5
Цистин	0,75	0,8	0,85	0,9	Цистин	0,7	0,2	0,4	0,5
Фенілаланін	5,3	5	3,8	3,9	Фенілаланін	3,9	3,8	3,5	3,8
Треонін	3,9	4,2	3,8	4,45	Треонін	3,8	4,3	4,4	4,2
Лізин	7,8	7,6	8,1	8,7	Лізин	6,5	7,6	7,2	6,8
Замінні амінокислоти	55,2	60,22	59,2	57,4	Замінні амінокислоти	59,1	61,6	60,8	60,1
В тому числі: Аспаргінова к-та	7,1	8,7	8,2	7,7	В тому числі: Аспаргінова к-та	5,7	9,3	8,3	6,9
Серин	2,8	4,5	4,1	3,25	Серин	3,1	4,9	4,1	4,4
Глутамінова к-та	16,3	14,8	15,2	15,9	Глутамінова к-та	14,8	15,8	14,9	15,1
Пролін	5	4,5	4,8	4,8	Пролін	4,7	4,9	4,7	4,9
Гліцин	3,8	6,5	5,2	4,6	Гліцин	8,1	6,8	8	7,4
Гістидін	5,5	2,3	4,5	3,7	Гістидін	6,8	2,9	4,6	5,6
Аланін	5,5	8,3	6,9	7,8	Аланін	5,9	6,3	6	6

Продовження табл. 5.6

Цистин	0,9	1,02	1	0,95	Цистин	0,7	1	0,8	0,6
Тірозин	2,7	3,3	3,2	2,9	Тірозин	3	3,2	3	3
Аргінін	5,6	6,3	6,1	5,8	Аргінін	6,3	6,5	6,4	6,2
сума НАК та ЗАМ	92,55	96,62	97,77	95,02	сума НАК та ЗАМ	94,32	99,8	99,7	97,6

Завдяки даному препарату відбулося збільшення незамінних амінокислот в грудних м'язах курчат 3-ї групи на 2,7 % порівняно з контролем, та в ніжках на 10,4 %. Це підтверджує дієтичні властивості м'яса птиці.

У результатів проведеної роботи було встановлено, що з усіх дослідних груп кращі результати було отримано в 3-й дослідній групі при додаванні до основного раціону 1,0 г функціональної добавки на 1 кг комбікорму [339].

5.5 Вплив функціональної добавки БК-Пт на формування кишкового мікробіоценозу курчат-бройлерів.

Процес становлення стабільного кишкового мікробіоценозу у кишечнику курчат триває протягом 30 діб, а зміни співвідношення мікробіоти відбуваються впродовж всього періоду життя [284, 368].

Дефіцит нормальної мікробіоти у курчат перших днів життя призводить до розвитку небажаної кишкової мікробіоти, сповільнюється процес формування імунокомпетентних органів, перевитрати енергії, закладеної в жовчному міхурі. Зниження імунного гомеостазу супроводжується підвищеною сприйнятливістю курчат до бактеріальних і вірусних інфекцій [139].

Важливу роль у розвитку бактерій в кишечнику належить сліпий кишці, яка відіграють також роль у перетравленні клітковини, білків, утилізації небілкового азоту. Анаеробна мікробіота здатна розкласти сечову кислоту, основний продукт обміну азоту у птахів, яка виділяється через нирки. Як і у

ссавців, мікробіота птахів знижує утилізацію ліпідів, зменшуює роль жовчних солей. Мікробіота на рівні сліпих кишок здатна синтезувати вітаміни, особливо групи В. Сліпа кишка відіграє також важливу роль у збереженні води та в підтримці водного балансу при підвищенні температури навколишнього середовища [230].

У подальшому визначали вплив функціональної добавки БП-Пт на кількісний і якісний склад мікробіоти сліпих кишок бройлерів на 38 добу досліду

Динаміка формування мікробіоценозу у курчат-бройлерів контрольної та дослідних груп в цілому не відрізнялися. Однак виявлені істотні відмінності в інтенсивності колонізації кишечника у складі кишкового біоценозу. Склад мікробіоти сліпих кишок курчат-бройлерів наведено в табл. 5.7.

При застосуванні функціональної добавки БК-Пт проявляються чітко виражені закономірності зміни мікробного біоценозу в кишківнику курчат. Відзначалася тенденція до більш інтенсивного заселенню кишківника представниками нормальної біфідо- та лактофлори.

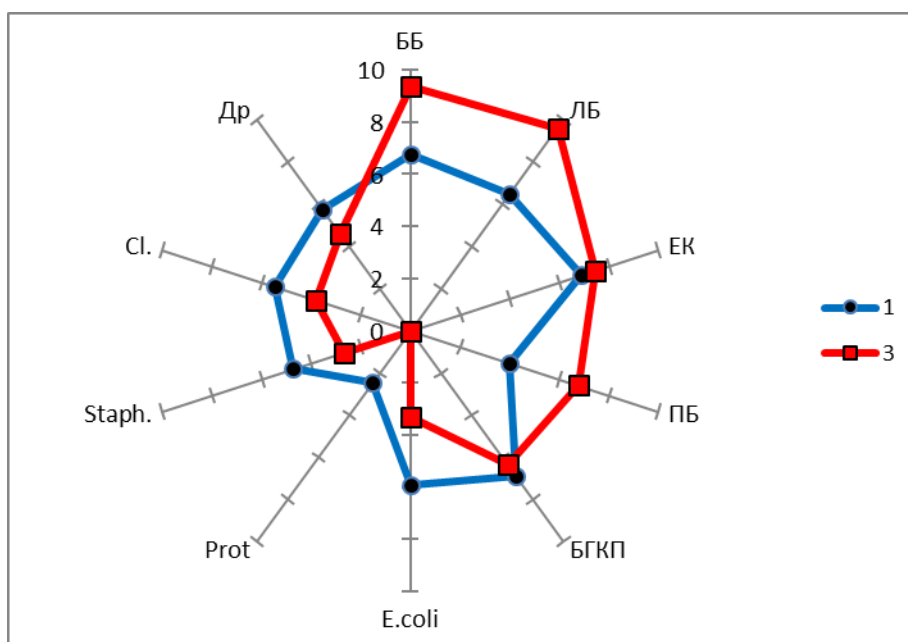
Як видно з табл. 5.7 на 38 добу застосування функціональної добавки у другій дослідній групі мікроорганізмів роду *Lactobacillus* виявлено у 1,23 разів більше, ніж в контрольній групі, в третій дослідній групі — у 1348,9 рази, а в четвертій дослідній групі мікроорганізмів роду *Lactobacillus* виявлено більше у 2041,7 разів порівняно з контролем першої групи.

Для здорової птиці характерно, що поряд з нормальною мікробіотою можуть бути присутніми патогенні мікроорганізми. Нормальна мікробіота виконує захисну функцію. Відгодовування курчат-бройлерів впродовж всього періоду вирощування функціональною добавкою БК-Пт (у кількості 1,0 кг/т корму) сприяло санації мікробіоти сліпих кишок, що проявлялось зменшенням кількості кишкової палички та кокових форм мікроорганізмів у вмісті сліпої кишки.

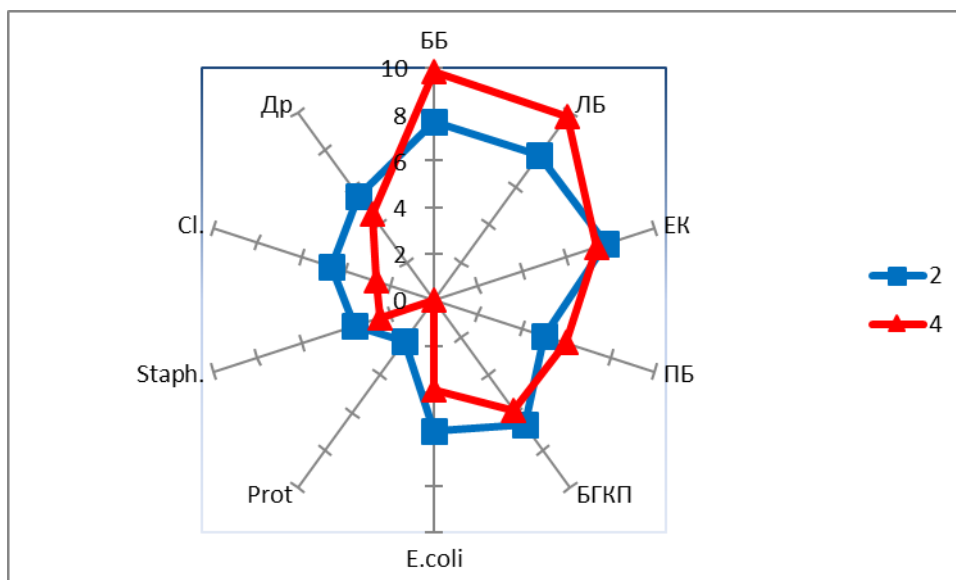
Таблиця 5.7

Склад мікробіотисліпих кишок курчат-бройлерів на 38 добу у(n=5)

Мікроорганізми	Групи			
	Кількість мікроорганізмів (КУО/г)			
	1	2	3	4
Біфідобактерії	$(5,6-6,6) \times 10^7$	$(1,4-4,4) \times 10^9$	$(4,5-7,5) \times 10^9$	$(6,2-8,1) \times 10^9$
Лактобактерії	$(2,4-7,3) \times 10^7$	$(4,1-7,4) \times 10^9$	$(2,4-4,7) \times 10^{10}$	$(4,3-6,4) \times 10^{10}$
Ентерококи	$(4,3-6,6) \times 10^6$	$(4,4-6,5) \times 10^6$	$(3,2-5,1) \times 10^7$	$(5,6-8,5) \times 10^6$
Пропіоновокислі бактерії	10^4	10^5	10^6	10^6
Лактозопозитивні БГКП	$(7,1-9,1) \times 10^6$	$(4,3-5,1) \times 10^6$	$(1,1-3,2) \times 10^6$	$(6,1-8,7) \times 10^5$
<i>E. coli</i>	$(4,4-7,6) \times 10^5$	$(3,2-6,7) \times 10^4$	$(8,4-9,0) \times 10^3$	$(4,3-6,4) \times 10^3$
Бактерії роду <i>Proteus</i>	$(1,7-4,3) \times 10^2$	$(0,7-2,3) \times 10^2$	—	—
Стафілококи	$(3,4-4,3) \times 10^4$	$(1,1-3,4) \times 10^3$	$(2,4-5,4) \times 10^2$	$(1,3-3,6) \times 10^2$
Анаеробні спороутворювальні бактерії <i>Clostridium</i>	$(1,2-3,4) \times 10^3$	$(3,2-4,3) \times 10^2$	—	—
Дріжджі	$(5,1-6,5) \times 10^5$	$(4,5-6,1) \times 10^5$	$(5,2-7,3) \times 10^4$	$(3,3-5,6) \times 10^4$



а)



б)

Рис. 5.5. Кількість мікроорганізмів у сліпій кишці курчат-бройлерів на 38-добу вирощування, Іг КУО/г (а) 1 та 3 дослідної групи б) 2 та 4 дослідної групи).

Щодо *E. coli*, то дослідних групах їх кількість зменшувалась, у порівнянні з контрольною першою: у 2-й у 0,58 разів у 3-й -0,27 разів та 4-й - 0,09 разів при застосуванні функціональної добавки.

Анаеробні спороутворювальні бактерії *Clostridium* на 38 добу застосування функціональної добавки не виявлено у третій та четвертій

дослідній групі.

У вмісті сліпих кишок бактерії роду *Proteus* у курчат 3-ї та 4-ї дослідної групи вони були взагалі відсутні. Кількість стафілококів зменшувалась на 4,37 % для 2-гої, 3-тої та 4-тої дослідної груп відповідно, аеробні спороутворювальні бактерії *Clostridium* – відповідно

Було помічено також збільшення кількості пропіоновокислих бактерії у третій та четвертій дослідні групі у 151 раз порівняно з контрольною.

В результаті проведених досліджень встановлено, що функціональну добавку БК-Пт можна використовувати для корекції кишкового мікробіоценозу.

Загальновідомо, що механізм дії пробіотиків спрямований не на знищення частини популяції кишкових мікроорганізмів, а на заселення кишківника мікроорганізмами, які регулюють чисельність умовно патогенної мікробіоти шляхом витіснення її зі складу кишкового мікробіоценозу [168, 169, 179].

Результати досліджень узгоджуються з дослідженнями Е.В.Якубенко зі співавторами [324, 325], які при згодовуванні використовували пробіотики «Бацелл» і «Моноспорин ПН» для птиці та відзначали збільшення кількості корисних мікроорганізмів (лакто- і біфідобактерій) і зниження вмісту патогенних мікроорганізмів у кишечнику, також з дослідженнями Трухачова В. зі співавторами, які використовували для корекції кишкового мікробіоценозу бройлерів препарат «Лактовіт-Н» [299].

Таким чином на 38 добу застосування функціональної добавки збереглася тенденція до зменшення кількості *E. coli* та збільшення кількості *Lactobacillus* і *Bifidobacterium* у сліпій кишці.

Технологію продукту захищено патентом України (Додаток Е. 7). За матеріалами досліджень опублікована статті [71].

Промислова апробація наведено в Додатках 3. 1 та 3.2.

Висновки до розділу 5

1. Доведено безпечність та економічну ефективність новоствореної функціональної добавки БК-Пт для птиці. Встановлено, що раціональною дозою функціональної добавки БК-П є 1 г на 1 кг корму. Показано, що додавання до раціону бройлерів функціональної добавки БК-Пт сприяло покращенню збереженості курчат-бройлерів з 90 % (контрольна група) до 96% (дослідні групи).

2. Позитивний вплив функціональної добавки на організм курчат-бройлерів підтверджують фізіологічні показники крові: стимуляція продукції еритроцитів на 9,2 % і гемоглобіну на 20,3%, синтезу сироваткового білка – на 7,7 %. Підвищення значення лізоцимної активності та бактерицидної активності сироватки крові у сукупності з іншими факторами імунітету забезпечило більш високу збереженість птиці.

3. Встановлено, що функціональна добавка БК-Пт позитивно впливає на підвищення забійного виходу патраних курчат. Маса їстівних частин були вищими в дослідних групах, вони склали 1317,56 г- 1296,7 г що вище рівня контрольної групи на 112,8 г і 92,5 г, відповідно в 3 -й і 4 -й дослідних групах. Енергетична цінність білого м'яса була вищою у курчат дослідних груп, порівняно з контрольною - на 6,9 % у 2 дослідній; на 5,9 % у 3 дослідній та на 9,9 % у 4 дослідній групі.

4. Встановлено, що найбільшою відносною біологічною цінністю характеризувалось біле м'ясо курчат третьої дослідної групи, яка на 34,7 % була вищою ніж у контрольній групі.

5. Дослідження мікробіоти сліпих кишок курчат-бройлерів на 38 добу показало, що під впливом функціональної добавки БК-Пт відбувається зменшення кількості *E. coli* та збільшення кількості *Lactobacillus sp.* і *Bifidobacterium sp.*

6. Біотехнологію отримання функціональної добавки БК-Птиця захищено патентом України на винахід.

РОЗДІЛ 6. ЗАСТОСУВАННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ДОБАВКИ БК-П У ВІДГОДІВЛІ ПОРОСЯТ

Багаторічний вітчизняний [39, 318, 371] досвід використання пробіотиків показав їх позитивний вплив на здоров'я і продуктивність тварин за рахунок здатності залучити до фізіолого-біохімічних процесів організму метаболіти пробіотичних штамів у вигляді монокарбонових коротколанцюгових кислот, вітамінів, ферментів і нутрієнтів, що беруть участь у складних процесах обміну речовин, забезпечуючи при цьому гармонійне поєднання власного (господаря) ферментативного і мікробного травлення [183, 449].

Створена нами біотехнологія функціональної добавки БК-П дозволяє виробляти сухий бактеріальний концентрат, в 1 г якого міститься $(1,3-2,5) \cdot 10^{11}$ життєздатних клітин біфідобактерій та $(2,3-2,5) \cdot 10^{11}$ – молочнокислих бактерій.

Схема досліду наведена в розділі 2 .

Тварини 1-2 груп знаходились біля свиноматок гніздами по 10 голів, в станках, попередньо очищених, продезінфікованих. Поросята 3 та 4 груп знаходились у групових станках по 30 голів. Годівля поросят дослідних та контрольних груп проводилась однаковими кормами (додаток 3. 6, 3. 4, 3. 6).

Контрольні групи функціональну добавку не отримували.

Тварини 1-2 груп знаходились біля свиноматок гніздами по 10 голів, в станках, попередньо очищених, продезінфікованих та побілених вапном. Маса плодів при народженні становила 0,9-1,0 кг. Поросята 3 та 4 груп знаходились у групових станках по 30 голів. Годівля поросят дослідних та контрольних груп проводилась однаковими кормами. Роздача препарату проводилась вручну. Препарат ретельно перемішували з молоком (до віку 30 діб) або водою (після віку 35 днів) після чого використовувався для збагачення основного раціону.

Препарат розчиняли у воді з розрахунку $0,2 \text{ г/дм}^3$. Доступ до води поросят і свиноматок необмежений. Після народження поросят препарат задавали з водою по $0,2 \text{ г/дм}^3$: свиноматкам – 14 днів, а потім поросят вільним

випоюванням через поїлку до 30-денного віку. Досліджували показники росту, розвитку та гематологічні показники поросят.

Профілактичну ефективність функціональної добавки БК-П визначали за відсутністю тварин з ознаками шлунко-кишкових захворювань.

Перед випробовуваннями тварини 1-ї дослідної та 2-гої контрольної груп були без симптомів шлунково-кишкових розладів, тому препарат 1-й групі задавали з профілактичною метою.

В 1-й дослідній групі за весь термін дослідження фізіологічний стан тварин залишався у нормі, тоді як в 2-й контрольній групі в 10-15 % поголів'я тварин періодично виникали ознаки шлунково-кишкових розладів.

6.1 Морфологічні та біохімічні показники крові дослідного молодняку свиней

Кров для дослідження відбирали із зовнішньої порожнистої вени на першу, п'ятнадцяту і тридцяту добу експерименту. В пробах крові визначали кількість еритроцитів, лейкоцитів, гемоглобін та загальний білок.

На початку проведення досліду у тварин 3-ї дослідної та 4-ї контрольної групи у окремих тварин спостерігалися такі симптоми: тварини пригнічені, t° тіла в межах норми, послаблений апетит (іноді відмова від корму), в окремих випадках ознаки діареї.

Після застосування функціональної добавки в 3-тій групі зникли всі симптоми захворювання (тварини активні, нормалізувався апетит, t° тіла в межах норми, симптоми діареї зникли). Спостереження, проведені за тваринами обох груп показали, що поросята 3-тьої дослідної групи були активнішими, мали гладеньку, блискучу щетину, шкіру рожевого кольору. Тварини активно споживали корм. В 4-й контрольній групі протягом всього періоду випробовування не спостерігали істотних змін у фізіологічному стані тварин, іноді відмічалися ознаки пригнічення та в окремих випадках діареї. Для всіх груп не спостерігали втрат поголів'я [87].

Морфологічні та біохімічні показники крові змінюються в залежності від віку тварин, сезону року, спадкових особливостей, факторів годівлі та умов

утримання. При цьому вміст у крові еритроцитів і гемоглобіну відображає певною мірою інтенсивність окисно-відновних процесів, що протікають в організмі дослідних тварин. Склад крові свідчить про нормальні або патологічні процеси в організмі тварини. Тому в нашій роботі передбачалося провести гематологічні дослідження. Визначення вмісту білку в сироватці крові має суттєве значення для оцінки складу обміну речовин тварин. Норма загального білку в крові дорослих свиней становить 70-80 г/дм³. Відомо, що концентрація гемоглобіну в крові залежить від загальної кількості еритроцитів і вмісту в кожному з них гемоглобіну. У крові свиней концентрація гемоглобіну коливається в межах 90-120 г/дм³ [87].

Морфологічний склад крові аналізувався нами за кількістю еритроцитів, лейкоцитів та за концентрацією гемоглобіну (таблиця 6.1).

Таблиця 6.1

Гематологічні показники поросят

Показник	Група поросят					
	1 доба		15 доба досліду		30 доба досліду	
	3-тя	4-та	3-тя	4-та	3-тя	4-та
Лейкоцити *10 ⁹ /дм ³	13,33±0, 125	13,94±0,0 81	13,81±0,0 67	14,12±0,0 84	14,43±0,0 47	14,29±0,0 81
Еритроцити *10 ¹² /дм ³	6,77±0,1 86	6,74±0,05 7	6,81±0,05 3	6,92±0,18 6	7,32±0,07 5	6,97±0,03 9
Гемоглобін, г/дм ³	74,45±0, 831	69,32±0,3 75	82,34±0,5 16	79,14±0,6 07	93,56±1,5 14	84,67±0,9 25
Загальний білок, г/дм ³	71,71±0, 799	78,42±0,5 32	72,97±0,8 93	74,41±0,7 76	78,15±0,8 66	84,26±0,9 12

Як показують дані таблиці 6.1, кількість еритроцитів у свиней дослідних груп змінюється цілком закономірно, підвищуючись до 2-х місячного віку на 3,4-8,1%.

Про інтенсивність обміну азоту в організмі судили за концентрацією загального білку крові. Концентрація загального білку крові в 3-тій дослідній групі нижче, ніж у 4-тій контрольній (рис. 6.1).

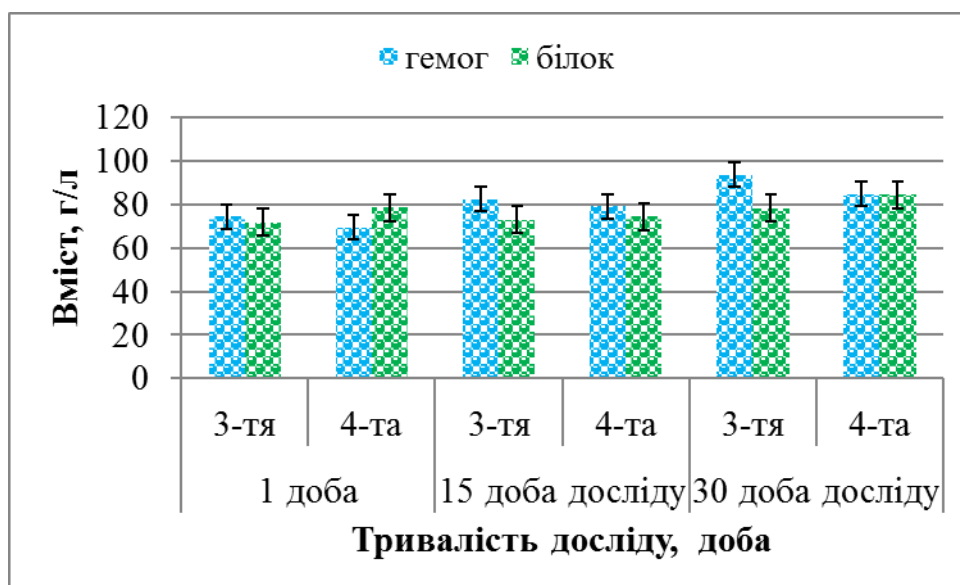


Рис. 6.1. Залежність вмісту гемоглобіну та загального білку від тривалості дослідження

Це свідчить про стимуляцію кровотворної функції. Вміст загального білка в сироватці крові піддослідних свиней відповідає фізіологічним нормам. Як видно з таблиці 6, у свиней дослідної групи концентрація загального білка (84,0 г/дм³) була вищою, ніж у аналогів контрольної групи на 7,7 %, що вказує на поліпшення білкового обміну в організмі тварин. Така ж тенденція простежується при застосуванні пробіотичних препаратів: Мультибактерін (2 мл/дм³), Імунобактерин-L (2 мл/дм³), кількість еритроцитів та лейкоцитів вища порівняно з контролем, в середньому на 8 % і 13 % [63].

Оптимальні умови для росту і розвитку підсвинків, що склалися при вживанні ними функціональної добавки в дослідній групі призвело також і до збільшення концентрації гемоглобіну на всіх етапах відгодівлі молодняка, яке виявилось вищим по відношенню до аналогів у контролі на 9,5 %. В цілому вміст еритроцитів і гемоглобіну в крові дослідних свиней знаходиться в межах фізіологічних норм.

У тварин, які споживали з основним раціоном пробіотик Біо-Мос спостерігали збільшення кількості гемоглобіну з 65,5 г/дм³ до 95,7 г/дм³ порівняно з поросятами контрольної групи, збільшення кількості еритроцитів з 6,7 г/дм³ до 7,8 г/дм³ [211].

Таким чином, згодовування функціональної добавки поросятam вплинуло на підвищення в концентрації еритроцитів на 5,0 %, гемоглобіну на 9,0 %. Проаналізувавши гематологічні показники крові дослідних тварин, виявили, що функціональна добавка БК-П позитивно впливала на організм клінічно-здорових тварин, окрім того, та сприяла підвищенню захисних функцій організму поросят.

6.2 Динаміка живої маси та інтенсивність росту молодняку свиней

В період дослідження спостерігали збільшення середньодобових приростів живої маси, що свідчить про ефективність застосування функціональної добавки (табл. 6.2).

Таблиця 6.2

Динаміка живої маси поросят, $M \pm m$, $n=10$

Група поросят	Середня жива маса на початку дослідю, кг	Середня жива маса на кінець дослідю, кг	Приріст живої маси за період дослідю, кг	Середньодобовий приріст, кг	% до контролю
1-ша	1,2 \pm 1,35	7,78 \pm 1,16	6,58 \pm 0,83	0,22	15,8
2-га	1,28 \pm 1,04	6,86 \pm 0,67	5,68 \pm 1,01	0,19	
3-тя	6,12 \pm 0,56	22,3 \pm 0,99	16,18 \pm 0,57	0,65	20,4
4-та	6,21 \pm 0,34	19,6 \pm 0,54	13,39 \pm 0,64	0,54	

Включення в раціон відгодівельного поголів'я свиней функціональної добавки БК-П позитивно вплинуло на забійні та м'ясні якості піддослідних поросят (табл. 6.2).

У таблиці 6.2 показано рівень інтенсивності росту молодняку в дослідних групах на тлі застосування функціональної добавки БК-П. Наведені в таблиці дані інтенсивності приросту свідчать про те, що з народження до двох місяців достовірних відмінностей за середньодобовими приростам між групами не спостерігалось. Між першої дослідної групою і контролем достовірної різниці по приростам не було виявлено.

При відгодівлі контрольної групи, середньодобові прирости молодняку першої серії дослідів дорівнювали в середньому 190 г, а дослідної – 220 г. У другій серії дослідів середньодобові прирости молодняку у контрольній групі становили 540 г, а в дослідній 650 г.

Так, середня маса тіла одного поросяти на початку дослідження у 3-тій дослідній та 4-тій контрольній групах становила відповідно $6,12 \pm 0,56$ кг та $6,21 \pm 0,34$, а на кінець дослідів - $22,3 \pm 0,99$ кг та $19,6 \pm 0,54$ кг.

Ростостимулювальна дію пробіотиків підтверджується дослідженнями ряду авторів. За даними Гришук [64] застосування пробіотику Біо-Мос поросятах призвело до підвищення живої маси молодняку на 1,5 кг більше ніж у контролі. В.М.Мешков із співавт. [211] при згодовуванні пробіотика Термоспоріна домоглися збільшення живої маси підсвинків на 561 г.

Селиванова І.Р. [366] в ході експерименту визначила, що препарат «Біфілак» у дозі (1 г / кг) підвищує збереженість поросят на 14,7%, нормалізує обмін речовин. В результаті захворюваність знижується в 1,5-2 рази, а приріст маси тіла збільшується на 8,5%. Прискорення росту на 1,9 % відбулося внаслідок вживання поросят перорально пробіотику Мікробовіт (2 мл/гол.) [268].

Таким чином, застосування функціональної добавки БК-П до основного раціону суттєво покращує фізіологічний стан поросят, приріст маси тіла та збереження поголів'я.

6.3 Корекція мікробіоценозу кишківника молодняка свиней функціональною добавкою БК-П

Нормофлора кишківника є важливою ланкою в процесах травлення і метаболізму. Біфідобактерії, бактероїди, пептострептококи, клостридії утворюють велику кількість ферментів, які беруть участь в процесах травлення. Вони перетворюють пектини та інші складні вуглеводи з синтезом цукрів, амінокислот, мінеральних речовин, органічних кислот: молочної, оцтової, пропіонової, в меншій мірі масляної і мурашиної.

Серед великої кількості функцій нормальної мікробіоти можна виділити найбільш значущі з точки зору фізіології:

- кишковий мікробіоценоз - один з невід'ємних компонентів травлення. Він функціонально пов'язаний з ферментативним гідролізом кормів. Розлади даного механізму в певній мірі знижують ефективність травлення, несприятливо позначаються на багатьох сторонах метаболізму;

- кишкова мікробіота представляє собою важливий елемент захисту організму. Її вплив поширюється не тільки на всі функціональні і анатомічні зони шлунково-кишкового тракту (конкуренція з патогенною мікробіотою, інактивація токсичних речовин в кишечнику і багато інших), а й на організм в цілому за рахунок прямої і опосередкованої участі в імуногенезі, біодеградації і виведенні з організму токсинів екзо- і ендогенного походження.

У віці 30 діб у поросят переважали біфідобактерії (9,8-10,8 lg КУО/г), , другими за чисельність були МКБ (8,4 - 8,9 lg КУО/г), третіми — ешеріхії (7,6-7,9 lg КУО/г), четвертими — ентерококи (6,3-6,8 lg КУО/г). У всіх тварин цієї вікової групи дріжджі та плісень (3,4-1,19 lg КУО/г), клостридії (3,22-4,2 lg КУО/г) та стафілококи – (4,57-5,97 lg КУО/г).

Нормальний кишковий мікробіоценоз, що характеризується перевагою біфідо- і лактобактерій, остаточно встановлюється у поросят за нормальних умов лише до 30-денного віку. До цього часу в кишечнику переважають ешеріхій, ентерококи та інші аеробні і факультативно-анаеробні бактерії, які не

здатні ефективно виконувати багато фізіологічні функції, в тому числі забезпечувати надійну колонізаційну резистентність. Фактично можна говорити про те, що перші 3 тижні життя у поросят спостерігають «природний дисбактеріоз», пов'язаний з особливостями становлення кишкової мікробіоти. Дані щодо зміни складу кишкової мікробіоти у клінічно здорових поросят наступних вікових груп наведені в таблиці 6.3.

На 1-у добу життя у всіх поросят в фецес були виявлені ешерихії, ентерококи, МКБ а ББ. До 15-ї доби спектр мікроорганізмів розширився (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

Динаміка мікроорганізмів у фекаліях поросят (n = 5, M ± m lg10 КУО/г)

Показник	Група поросят					
	1 доба		15 доба дослідю		30 доба дослідю	
	1-ша	2-га	1-ша	2-га	1-ша	2-га
МКБ	3,1±0,15	3,15±0,08	8,1±0,07	8,6±0,02	8,4±0,09	8,9±0,14
ББ	3,3±0,13	3,35±0,05	9,2±0,12	10,4±0,39	9,8±0,15	10,8±0,11
<i>Enterobacter ssp</i>	2,2±0,06	1,8±0,05	7,4±0,09	7,5±0,18	7,6±0,11	7,9±0,09
<i>E.coli</i>	1,8±0,06	1,75±0,11	7,3±0,15	7,0±0,07	7,1±0,07	6,8±0,08
<i>Staphylococcus ssp</i>	1,23±0,15	1,34±0,12	4,84±0,06	3,79±0,12	5,97±0,23	4,57±0,23
<i>Enterococcus ssp</i>	3,1±0,59	3,2±0,1	6,8±0,07	6,5±0,10	6,8±0,07	6,3±0,12
Дріжджі	1,1±0,15	1,1±0,09	3,5±0,07	3,1±0,04	3,4±0,14	3,0±0,15
Плісень	0	0	2,24±0,09	1,64±0,13	3,36±0,06	1,19±0,23
<i>Clostridium ssp</i>	0	0	3,45±0,32	2,87±0,22	4,2±0,22	3,22±0,12

Аналіз впливу функціональної добавки БК-П на формування кишкової популяції МКБ виявив наступне. Починаючи з першого дня випоювання з функціональною добавкою спостерігали повільне наростання популяційного рівня МКБ у фекальному вмісті поросят дослідної групи порівняно з

контрольними значеннями. У цей період кількість МКБ у кишковому мікробіоценозі поросят (вік поросят 30 діб) склала $8,9 \pm 0,14$ Ig КУО/г і була достовірно вище контрольного значення, рівного $8,4 \pm 0,09$ Ig КУО/г (див. табл. 6.3 та рис. 6.2).

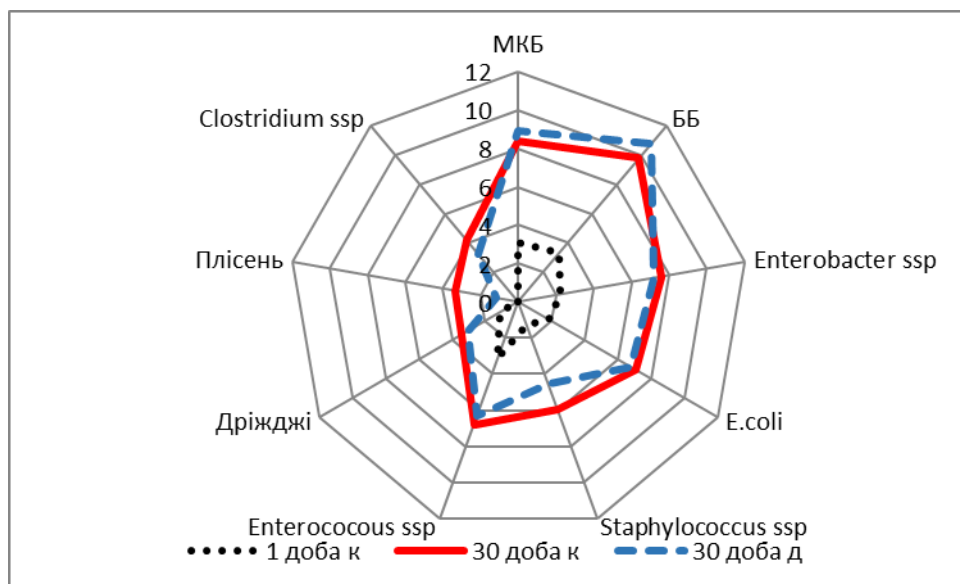


Рис. 6.2. Характеристика кишкового мікробіоценозу поросят (вік поросят 30 діб).

Порівняння кількісних характеристик популяційного рівня біфідобактерій у зовні здорових поросят дослідної і контрольної груп представлено в таблиці 1. Перед постановкою досліду популяційний рівень цієї групи мікроорганізмів не мали достовірних відмінностей і становив $3,3 \pm 0,13$ Ig КУО/г в контрольній групі, $3,35 \pm 0,05$ Ig КУО/г в дослідній групі. У процесі природного заселення кишківника біфідофлорою, її кількість в кишковому біоценозі поросят як дослідних, так і контрольної груп зростало. Мікробіологічні дослідження фекалій поросят, проведені через 15 дні після початку впоювання функціональною добавкою, виявили, що кількість біфідобактерій в фекаліях вмісті поросят дослідної групи збільшилася і досягла величини $10,4 \pm 0,39$ Ig КУО/г, в контрольній групі $9,2 \pm 0,12$ Ig КУО/г. Через 15 днів (вік поросят 30 днів) після початку досліду, популяційний рівень біфідобактерій у поросят дослідної групи перевищував контрольну на 1,0 Ig КУО/г відповідно.

Аналіз даних таблиці (див. табл. 6.3 та рис. 6.2) свідчить, що у поросят, яким вipoювали функціональну добавку, рівень популяції бактерій груп кишкових паличок у продовж досліджень перевищував аналогічні показники у контрольних поросят, які не отримували добавки. Необхідно відзначити, що значення цієї групи мікроорганізмів для підтримки колонізаційної резистентності і кишкового мікробного травлення, за умови збереження високого популяційного рівня лактобацил, біфідобактерій і ентерококів таке ж велике, як і інших корисних мікроорганізмів. Уміст *E.coli* впродовж дослідження у дослідній групі був вищим і на 30 добу становив $7,1 \pm 0,07$ Ig КУО/г на відміну від дослідної - $6,8 \pm 0,08$ Ig КУО/г. Показано, що активне заселення кишечника поросят бактеріями групи кишкових паличок відбувається в перші десять днів після народження. На п'ятнадцяту добу кількість бактерій групи кишкових паличок дорівнювало $7,4 \pm 0,09$ Ig КУО/г в контрольній групі, а в дослідній $7,5 \pm 0,18$ Ig КУО/г. Збільшення кількості бактерій до значення $7,6 \pm 0,11$ Ig КУО/г у поросят контрольної групи спостерігали у віці 30 діб. (див. табл. 6.3 та рис. 6.2).

Порівняння динаміки наростання кількості ентерокової популяції дослідних і контрольних поросят виявило достовірну різницю між значеннями, починаючи з п'ятнадцятої доби дослідження.

Як впливає з таблиці 6.3, під впливом добавки популяційний рівень ентерококів у дослідних поросят зростає. Кількість ентерококів в фекаліях поросят дослідних груп через 15 днів після початку дачі препарату склало $6,8 \pm 0,07$ Ig КУО/г, тоді як у поросят контрольної групи - $6,5 \pm 0,10$ Ig КУО/г. На 30 добу після початку вipoювання функціональної добавки було помічено відмінності в популяційному рівні ентерококів у поросят дослідних і контрольних груп. Різниця кількості ентерококів в пробах фекалій дослідної та контрольної групи поросят цього віку склала 0,5 Ig КУО/г. У фекаліях поросят виявили наявність у них стафілокової мікробіоти вже на 15 добу дослідження, в період, коли кишковий біоценоз перебуває на стадії формування (див. табл. 6.3). Кількість стафілокової мікробіоти в фекаліях поросят на

початку досліджень був приблизно однаковий. Суттєвою кількісною різницею між популяційним рівнем стафілококової фекальної мікробіоти у дослідних і контрольних поросят виявлено через 15 днів. В зразках фекалій поросят, які отримували добавку, популяційний рівень стафілококової мікробіоти був нижчим, ніж у поросят контрольної групи. У цей період кількість стафілококової мікробіоти у поросят дослідних груп був на рівні $3,79 \pm 0,12 \text{ lg КУО/г}$ тоді як, у поросят контрольної групи кількість стафілококів була $4,84 \pm 0,06 \text{ lg КУО/г}$. така тенденція і спостерігалась до кінця дослідження.

Слід зазначити, що сам факт виявлення стафілококів і плісені в фекаліях без подальшого їх типування не є підставою для постановки діагнозу на стафілококоз або мікоз і призначення хіміотерапевтичних препаратів. Представники нормальної мікробіоти, формуючи колонізаційну резистентність, перешкоджають надмірному розвитку цих та інших представників патогенної та умовно-патогенної груп.

У період застосування функціональної добавки популяційний рівень дріжджів та плісені у поросят дослідної групи залишався на стабільно низькому рівні - $3,0 \pm 0,15 \text{ lg КУО/г}$ та $1,19 \pm 0,23 \text{ lg КУО/г}$ відповідно.

Рівень клостридій в кишківнику поросят на 30 добу досліджень контрольної групи знаходився на рівні $4,2 \pm 0,22 \text{ lg КУО/г}$, тоді як в дослідній групі цей показник був нижчим - $3,22 \pm 0,12 \text{ lg КУО/г}$.

Отримані дані співпадають з результатами [16, 58], показано, що пробіотики «Біохелп» і «Лактімет» рівномірно заселяють шлунково-кишковий тракт, стимулюють формування лакто- і біфідофлори, пригнічують умовно-патогенну мікробіоту. Дослідження мікробіоти фекалій поросят піддослідних груп свідчить про те, що вживання їм пробіотичних добавок має різну ступінь впливу на формування основних популяцій мікроорганізмів кишечника, яке виявлялося як в динаміці формування популяцій, так і в зміні їх популяційного рівня.

Таким чином, функціональна добавка сприяла швидкому становленню нормального кишкового біоценозу поросят активному росту популяції МКБ,

ББ, ентерококів і бактерій групи кишкової палички. В ході проведених досліджень встановлено, що функціональна добавка БК-П сприяють підвищенню лакто-і біфідобактерій, а також зниження бактерій групи кишкових паличок. Така динаміка кишкового біоценозу у поросят- сприяє попередженню розвитку дисбіотичних процесів

6.4 Показники м'ясної продуктивності дослідного молодняку свиней

М'ясо свиней - істотне джерело білку, жирів, мінеральних і екстрактивних речовин, які представлені в ньому в оптимальному кількісному і якісному співвідношенні. Збалансованість раціонів за основними поживними і біологічно активних речовин є одним з факторів, що визначають м'ясну продуктивність сільськогосподарських тварин.

Дещо кращими за відгодівельними якостями при цьому рівні годівлі були тварини яким з метою профілактики задавали функціональну добавку БК-П у період відйому. Живої маси 100 кг вони досягли за 319 день Тварини контрольної групи такої ваги досягли на 325 день.

Забійні якості піддослідних тварин наведенні в табл.6.4 свідчать, що вихід туші вищим був у тварин дослідної групи порівняно з контрольною. При забої підсвинків живою масою близькою до 100 кг встановлено вірогідну різницю за забійним виходом між тваринами контрольної групи та підсвинками дослідної групи.

За період досліду найкраще (порівнюючи з контрольними аналогами) росли тварини дослідної групи, їх прирости були вищими на 12,1 % відповідно.

Найбільш важливими показниками м'ясної продуктивності є забійна маса і маса туші. Крім абсолютних показників маси м'яса та інших продуктів забою, рівень м'ясної продуктивності характеризується забійним виходом і площею «м'язового вічка». За виходом м'яса в туші кращими виявилися тварини дослідної групи. Слід зауважити, що за такого рівня годівлі вихід м'яса в тушах коливався в межах 44,4–51,2 %.

Таблиця 6.4

Забійні якості піддослідних свиней, $M \pm m$, $n=5$

Показники	Групи тварин	
	Контроль	Дослід
Передзабійна жива маса, кг	107,3 \pm 1,72	113,5 \pm 2,08
Маса парної туши, кг	66,71 \pm 1,18	70,33 \pm 1,77
Вихід туші, %	61,59 \pm 0,54	62,52 \pm 0,92
До контролю	-	0,93
Внутрішній жир, кг	4,54 \pm 0,36	4,02 \pm 0,13
Площа «мязового вічка», см ²	32,54 \pm 1,01	35,67 \pm 1,01
Маса м'яса, кг	35,89 \pm 1,04	40,63 \pm 1,33
Маса кісток, кг	7,11 \pm 0,48	7,03 \pm 0,61
Маса сала, кг	23,71 \pm 0,57	22,67 \pm 1,19
Відношення в туші мясо/сало	1:0,66	1:0,56
Енергетична цінність, ккал	121	109

Маса парної туші молодняку свиней дослідної групи була вище, ніж однолітків контрольної групи, на 3,62 кг (5,4%). Туші підсвинків контрольною групи мали дещо меншу перевагу над дослідною групою за показником вихід м'яса і становила 35,89 кг 40,63 кг відповідно, а сала більше було у контрольній групі (4,4 %).

Аналогічно розрізнялися туші підсвинків і за площею «м'язового вічка». Найкращим цей показник був у тварин дослідної групи: 35,67 \pm 1,01см², що на 3 см² більше, ніж у аналогів контрольної групи.

Результати контрольного забою показали позитивний вплив функціональної добавки БК- Пна ріст і м'ясну продуктивність свиней.

Аналіз даних таблиці 6.4 показав, що за показниками забійного виходу він знаходився на рівні 62,52 %, тварини цієї групи переважали аналоги контрольної групи (1,0 %). Маса внутрішнього жиру в контролі групі свиней була більшою у ніж у дослідній на 11,5 %.

Якість туш в значній мірі залежить від співвідношення вхідних в неї частин, а їх питома маса в туші, у свою чергу, визначається різницею в швидкості росту кісток, м'язової і жирової тканин в процесі онтогенезу під впливом умов годівлі та утримання.

Найвищою енергетичною цінністю характеризувалося м'ясо тварин контрольної групи – 121 ккал, тоді як у дослідних тварин – 109 ккал.

Енергетична цінність найдовшого м'яза спини, одержаного від молодняку свиней, яким згодовували функціональну добавку БК-П була на 15 ккал/кг нижча порівняно з контрольною групою.

Таким чином, спостерігалася залежність між середньодобовими приростами піддослідних свиней та індексом м'ясності. Збільшення площі «м'язового вічка» в групах тварин, вирощених із застосуванням функціональної добавки у ранній період відгодівля вищими середньодобовими приростами, вело до збільшення індексу м'ясності.

Отже, на підставі одержаних результатів можна стверджувати, що додавання функціональної добавки БК-Т на ранній стадії відгодовування позитивно впливає на м'ясність свинини.

6.5 Фізико-хімічні властивості і хімічний склад м'язової тканини дослідного молодняку

За оцінки м'яса особливу увагу звертають на якісні його показники та хімічний склад, від яких залежать технологічні і харчові властивості. Якість м'яса визначається його хімічним складом і співвідношенням в ньому білка і жиру.

Порівняльну оцінку якості м'яса тварин проводили на зразках найдовшого м'яза спини (таблиця 6.5).

Таблиця 6.5

Хімічний склад найдовшого м'язу спини дослідних свиней, % n=5

Показник	Групи тварин	
	Контроль	Дослід
Суха речовина, %	23,52±0,72	24,78±1,01
Протеїн, %	19,78±0,99	21,66±0,86
Жир, %	2,99±0,05	2,56±0,09
Зола, %	0,75±0,06	0,56±0,05
Співвідношення протеїн:сухі речовини	0,84	0,87
Співвідношення протеїн:жир	6,62	8,46

Уміст сухої речовини в найдовшому м'язі спини був вищим у тварин дослідної групи і переважав показник контрольної групи на 1,26 %. Більша кількість сухої речовини у свинині, отриманій від підсвинків дослідної групи, забезпечувалася вищим вмістом протеїну та меншим вмістом жиру, відповідно на 1,88 та 0,43 у порівнянні з контрольною групою. Вміст жиру в м'ясі тварин контрольної групи складав 2,99% проти 2,56% у дослідній групі. Вміст золи найвищим був в м'ясі свиней контрольної групи – 1,25% .

Дані таблиці 6.5 свідчать про помітний вплив функціональної добавки БК-П через систему травлення на хімічні показники м'яса. Помічено, що зниження вмісту води і підвищення концентрації сухої речовини, білку, і зменшення жиру з незначною зміною вмісту мінеральних речовин. У дослідній групі збільшився вміст сухої речовини на 5,36, білку – 9,05 %.

Відношення протеїн : сухі речовини та протеїн : жир в дослідній групі було меншим в м'ясі контрольної групи свиней.

Одним з важливих якісних показників м'яса є його вологоутримувальна здатність, Як видно із наведених даних у свиней контрольної групи цей

показник був меншим ніж у контрольних (тобто кількість зв'язаної води зменшується). Крім того, м'ясо свиней дослідної групи було більш ніжнішим і мало більш інтенсивне забарвлення. Інтенсивність забарвлення м'яса деякою мірою характеризує активність біологічних процесів, що відбуваються в організмі та тканинах (таблиця 6.6).

Для характеристики вмісту і стану вологи в м'ясі використовується ряд показників, як правило, тісно пов'язані між собою. це, перш за все масова частка вологи (волога, %), активність води (a_w) і вологоутримувальна здатність, % (ВУЗ).

Активність води служить одним з основних бар'єрів для розвитку небажаної мікробіоти і регламентується низкою міжнародних стандартів [197, 301]. Показник активності води в сировині тваринного походження (М'ясо, риба, молоко) має значення близько 0,99, близьке до оптимуму розвитку більшості негативно технологічних і патогенних мікроорганізмів [204].

Таблиця 6.6

Фізичні властивості м'язової тканини свиней

Показники	Групи	
	Контроль	Дослід
Інтенсивність забарвлення, од. екст x1000	61,36±0,57	63,27±0,79
pH	5,87±0,06	5,92±0,09
a_w	0,987±0,003	0,998±0,001
Вологоутримувальна здатність, %(ВУЗ).	54,33±1,01	55,04±0,96
Уварюваність, %	39,63±1,57	37,19±0,86

У той же час активність води в м'ясному сировину має відносно вузький діапазон значень - від 0,983 до 0,992. При цьому в м'ясній сировині різного виду і з різним співвідношенням білка і жиру співвідношення води і білка знаходиться в межах 3,5-3,7: 1 (число Федера - Federzachl) [236].

Одним з технологічних показників якості м'яса є його вологоутримуюча здатність, яка впливає на вихід готової продукції і тісно пов'язана з соковитістю, ніжністю та іншими показниками які характеризують фізичні властивості. Чим вище волого утримуюча здатність м'яса, тим воно менше втрачає соку при тепловій обробці, і продукт, виготовлений із такого м'яса, соковитіше.

Молодняк свиней дослідної групи перевищував тварин контрольної групи за показником волого утримуючої здатності найдовшого м'язу спини на 0,71 %. Разом з тим уварюваність найдовшого м'язу спини була вище у тварин контрольної групи в порівнянні з дослідною на 1,44 %.

Якість м'яса залежить від величини рН, і при оптимальному його значенні процес дозрівання м'якоті протікає більш інтенсивно, м'ясо набуває ніжну консистенцію з приємними ароматом і смаком. Рівень активної кислотності найдовшого м'язу спини у всіх групах знаходився в межах 5,92- 5,87 од. В нашому випадку цей показник був вищим у м'ясі свиней дослідної групи.

Якщо початковий його показник нижче 5,8 то свинина може бути віднесена до категорії з ознаками блідої, м'якої і ексудативної (PSE) в результаті різкого та швидкого зниження рН. М'ясо, у якого після забою через 24 години рН вище 6,1, належить до категорії з ознаками темної, жорсткої і сухої (DFD), оскільки рН не знижується до потрібного рівня. Перевага надається рН: початковій – 6,7-6,3 і кінцевій – 6,1-5,7 [246].

Показник інтенсивності забарвлення м'яса у тварин контрольної групи – 61,36 од.е, дослідної – 63,27 од. е.

Свинина, яка «не утримує» воду, небажана для подальшої переробки та для вживання у свіжому вигляді. Втрата вологи вище 5% і більше 25% при кулінарній обробці означає, що свинина низької якості. Загальні втрати вологи для усієї філейної частини не повинна перевищувати 3%. У наших дослідях при технологічній обробці найменше втрат було одержано у свинині дослідної групи (39,63 %).

У дослідних зразках по закінченню вирощування молодняку забезпечує максимальне зниження загальної кислотності, підвищення вологоутримуючої здатності свинини на 0,85%, 1,13% порівняно з контролем. Така динаміка говорить про те, що м'ясо дослідних тварин відрізняється здатністю до більш тривалому зберіганню, збереженню смаку і соковитості за глибокої термічної переробки.

Свинина високої якості має наступні фізико-хімічні показники: вологоємність – 67 % і більше, колір – 83 ек.×1000 і більше, ніжність – 7,9 с і менше, вміст внутрішньом'язового жиру – 3,1% і більше, температура топлення шпику – 29,6°C і менше [246].

Таблиця 6.7

Кореляційні зв'язки між фізико-хімічними показниками мяса свиней

Група	Коефіцієнт кореляції			
	рН		Інтенсивність забарвлення, од.екст. *1000	
	ВУЗ, %	Уварюваність, %	рН	ВУЗ,%
Контроль	+0,972	+0,933	+0,231	+0,451
Дослід	+0,325	+0,981	+0,879	+0,737

Високий рівень кореляційних зв'язків між вологоутримуючою здатністю та інтенсивністю забарвлення м'яса становив у тварин контрольної та дослідної груп 0,451-0,737, між інтенсивністю забарвлення та рН м'яса тварин всіх груп 0,231-0,879. Коефіцієнт кореляції між вологоутримуючою здатністю та рН коливався від 0,972 до 0,325. Найвищий позитивний кореляційний зв'язок спостерігали між уварюваністю та рН 0,933 до 0,981. Розраховані коефіцієнти кореляції між фізико-хімічними показниками свідчать, що вони мають різний напрямок та силу.

На виробництво нової функціональної розроблено НД (Додаток Г. 1, Г. 2).

6.6 Економічна ефективність використання функціональної добавки «БК-П» в раціоні молодняку свиней

Основним показником, що характеризує економічну ефективність застосування функціональної добавки «БК-П» в раціоні молодняку свиней є економічний ефект, що складається з сумарної економії виробничих ресурсів (заробітної плати, кормів і т.д.) і з поліпшення якісних показників, що розраховується в грошовому вираженні.

Методологія оцінки економічної ефективності виробництва свинини у сільськогосподарських підприємствах ґрунтується на визначенні значень системи вартісних та натуральних показників. Серед яких важлива роль відводиться показникам прибутковості. У сучасних умовах немає єдиної позиції щодо узагальнюючих показників економічної ефективності, проте значна частина науковців вважає, що ними є рівень рентабельності та норма прибутку.

Для оцінки економічної ефективності виробництва свинини в експерименті враховували витрати кормів на одиницю продукції, її собівартість, додаткові грошові витрати (таблиця 6.8).

В дослідних групах величина витрати корму значно нижче ніж в контролі. В дослідному варіанті -4,05 к. Од. що на 6,7 % краще контролю.

Дані таблиці 6.8 свідчать, що застосування функціональної добавки «БК-П» за відгодівлі свиней в дозуванні 25 мг на голову дозволяє отримати додатковий прибуток, економічний ефект склав не більше 6991,5 грн в розрахунку на групу або 139,83 грн на 1 голову Абсолютний приріст до закінчення досліді по кожному з підсвинків був вище у досліді, ніж у контролі в середньому на 9,7 кг, а собівартість 1 кг приросту був вищим у контролі на була нижчою на 3,3 %.

Економічний ефект склав 139,8 грн на 1 голову або 6991,5 грн на групу. Схожі результати отримані при вивченні ефективності згодовування пробіотиків [323]. При оцінці показників економічної ефективності використання нормалізованих раціонів з додаванням преміксу ТМ «ТЕК- РО»

та пробіотику «Моноспорин» показано, що при комплексному їх застосуванні спостерігається найкращий результат: рівень рентабельності становить 47,7%, а прибуток від реалізації 1 голови – 185,09 грн. Тим часом як рентабельність виробництва свинини при використанні пробіотика разом з основним раціоном годівлі дорівнює 7,8%.

Таблиця 6.8

**Економічна ефективність виробництва свинини при використанні в
раціоні молодняку функціональної добавки «БК-П» за даними на
2013 р**

Показник	Групи	
	Контроль	Дослід 1
Поголів'я на початок дослідів, гол	50	50
Збереження, %	100	100
Поголів'я на кінець дослідів, гол	50	50
Витрати кормів на 1 ц приросту свиней, ц кормових одиниць	4,35	4,06
Витрати на придбання «БК-П », грн	-	270
Передзабійна жива маса, кг	107,3±1,72	113,5±2,08
Абсолютний приріст живої маси 1 голови за період дослідів	87,7	94,3
Валовий приріст на групу, кг	4385	4715
Собівартість 1 кг свинини, грн	39,5	38,2
Собівартість валового приросту, грн.	173207,5	180113
Виручка від реалізації свинини, грн	245180,5	259347,5
Прибуток від реалізації отриманої продукції, грн.	71973	78964,5
Економічний ефект вирощування, грн	-	6991,5
Економічний ефект у перерахунку на 1 голову, грн.	-	139,8
Рентабельність виробництва, %		43,8

Висновки до розділу 6

1. Функціональна добавка БК-П придатна для промислових господарств з вирощування свиней і є екологічно безпечним та ефективним засобом для проведення лікувально-профілактичних заходів. У дослідній групі за весь термін дослідження фізіологічний стан тварин залишався у нормі, тоді як в 2-й контрольній групі в 10-15 % поголів'я тварин періодично виникали ознаки шлунково-кишкових розладів.

2. Функціональна добавка сприяє швидкому становленню нормального кишкового біоценозу поросят, активному росту популяції МКБ, ББ, ентерококів і бактерій групи кишкової палички. В ході проведених досліджень встановлено, що функціональна добавка БК-П сприяє підвищенню кількості лакто- і біфідобактерій, знижуючи, водночас кількість бактерій групи кишкових паличок.

3. Показано рівень інтенсивності росту молодняку в дослідних групах на тлі застосування функціональної добавки БК-П з народження до двох місяців; достовірних відмінностей між групами не спостерігалось. Кращими за відгодівельними якостями були тварини, яким з метою профілактики задавали функціональну добавку БК-П у період відйому. Живої маси 100 кг вони досягли за 319 день Тварини контрольної групи такої ваги досягли на 325 день.

4. За період дослідів найкраще (порівнюючи з контрольними аналогами) росли тварини дослідної групи, їх прирости були вищими на 12,1 %. За виходом м'яса в туші кращими виявилися тварини дослідної групи, ці показники коливалися в межах 44,4–51,2 %. Енергетична цінність найдовшого м'яза спини, одержаного від молодняку свиней, яким згодовували функціональну добавку БК-П, була на 15 ккал/кг нижча порівняно з контрольною групою.

5. Визначено шляхи застосування функціональної добавки БК-П – безпосередньо як пробіотичний препарат для корекції кишкової мікробіоти,

покращення фізіологічного стану поросят та збільшення приросту маси тіла та збереженість поголів'я.

6. Показано, що м'ясо дослідних тварин характеризується більшою стійкістю до зберігання, збереженням смаку і соковитості за глибокої термічної переробки. Встановлено високий рівень кореляційних зв'язків між вологоутримувальною здатністю та інтенсивністю забарвлення м'яса становив у тварин контрольної та дослідної груп $r = 0,451-0,737$, між інтенсивністю забарвлення та рН м'яса тварин всіх груп – $r = 0,231-0,879$. Коефіцієнт кореляції між вологоутримуючою здатністю та рН коливався від 0,972 до 0,325. Найвищий позитивний кореляційний зв'язок спостерігали між уварюваністю та рН – $r = 0,933$ до 0,981.

7. Встановлено, що застосування функціональної добавки «БК-П» за відгодівлі свиней в дозуванні 25 мг на голову дозволяє отримати додатковий прибуток, економічний ефект склав 6991,5 грн в розрахунку на групу або 139,83 грн на 1 голову.

8. Технологію функціональної добавки для поросят впроваджено у виробництво на ДДП ІПР НААН. За результатами клінічної апробації розроблено та рекомендовано до впровадження у ветеринарну практику пробіотик ТІММ-С.

РОЗДІЛ 7. ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕПАРАТУ «БК-Т» У ВІДГОДІВЛІ ТЕЛЯТ

7.1. Функціональна добавка для телят БК-Т

Відповідно до загальноприйнятих положень, перш ніж рекомендувати виробниче і широке використання нового ветеринарного препарату, необхідно проведення випробування його нешкідливості в умовах біологічного експерименту на лабораторних тваринах. Визначення параметрів загальної токсичності нових функціональних препаратів є невід'ємною частиною комплексу досліджень, що визначають їх безпечність та ефективність [148, 217, 296].

Токсичність функціональної добавки досліджували на білих щурах 3-4-місячного віку, масою тіла 170-180 г (додаток Ж. 1).

Тварин утримували в стандартних умовах Експерименти, проведені на живих хребетних, відповідали принципам Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) [373], та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження». (Україна, 2001).

Хронічну токсичність функціональної добавки вивчали на 18 білих щурах масою 170-180 г. Було сформовано 3 однакові за кількістю та масою групи, по 6 тварин кожна. Вводили добавку у дозах: тваринам I групи – 0,1 см³, II групи – 0,5 см³, III група тварин була контрольною, їм вводили дистильовану воду [98].

З лабораторних тварин було сформовано дослідні та контрольні групи по 6 голів у кожній за принципом аналогів, що містили в стандартних клітках, годували повноцінним раціоном. Перед початком дослідів тварин витримували в карантині не менше 7 днів, ведучи за ними щоденні спостереження, слабких виключали як з дослідних, так з контрольної групи.

Для проведення досліджень використовували функціональну добавку БК-Т яка містить 4 високоактивних штами: *B. infantis* 4302, *B. animalis* 4506, *L. acidophilus* 3137, *L. paracasei* 3801.

Препарат вводили у шлунок піддослідним тваринам за допомогою металевого зонду для лабораторних тварин натще, одноразово та багаторазово.

Відмічали росто–вагові показники щурів. Встановлено, що функціональна добавка до основного раціону позитивно впливала на збільшення маси тіла дослідних щурів (рис. 7.1 та табл. 7.1).

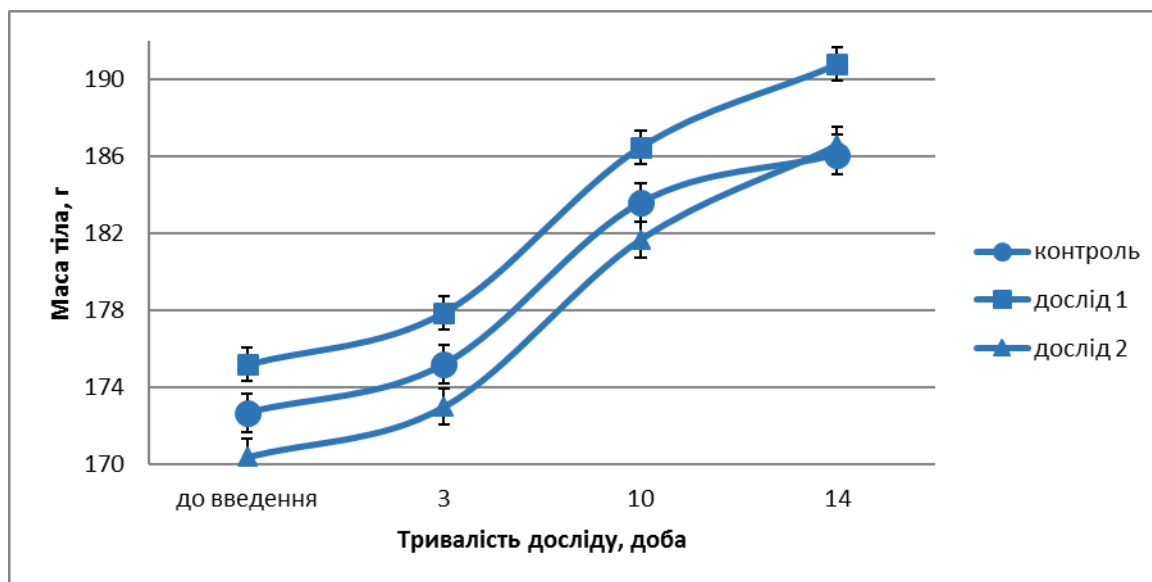


Рис. 7.1 Динаміка зміни маси тіла щурів

Під час дослідження спостерігали незначні зміни приросту маси щурів в групах з різними дозами функціональної добавки БК-Т (табл. 7.1).

Таблиця 7.1

**Приріст маси щурів з різними дозами функціональної добавки
БК-Т (г), n=6**

<i>Доза</i>	<i>Через 3 доби</i>	<i>Через 7 діб</i>	<i>через 14 діб</i>
0,1 см ³	2,7±0,051	8,6±0,076	4,3±0,046
0,5 см ³	2,6±0,072	8,7±0,071	4,9±0,062
Контроль	2,5±0,067	8,4±0,068	2,5±0,052

Примітка: * - $p < 0,05$ достовірність розрахована у порівнянні з контрольною групою

У результаті експерименту встановлено, що інтенсивність росту білих щурів дослідної групи зростала у динаміці й на кінець досліду (14 -добу)

становило на 2,2-2,8 г порівняно з тваринами контрольної групи. Згідно з існуючою методикою, активним вважається препарат, якщо різниця між середньодобовими приростами маси тіла у групах становить не менше 10 % .

Виявлено, що збереженість тварин як у дослідній, так і в контрольній групах становила 100 %. Варто відмітити, що дослідні тварини добре вживали корм і воду. Поведінка дослідних тварин відповідала нормі (рухливі, активні) (табл. 7.2) [98].

Таблиця 7.2

Результати дослідження токсичності функціональної добавки БК-Т

<i>Доза</i>	<i>Кількість тварин у групі</i>	<i>Кількість загиблих тварин</i>	
		<i>Всього</i>	<i>% до контролю</i>
0,1 см ³	6	0	0
0,5 см ³	6	0	0
Контроль	6	0	0

Спостереження за лабораторними тваринами вели протягом 14 діб.

При цьому враховували такі показники: зовнішній вигляд, поведінку тварин, стан шерсті, видимих слизових оболонок, відношення до корму, ритм, частоту дихання, час виникнення та характер інтоксикації, її важкість, перебіг, час загибелі тварин або їх одужання. Відразу після введення препарату фізіологічний стан тварин був в нормі. На наступну добу змін в клінічному стані та загибелі дослідних тварин не виявлено [98].

Для вивчення вивченні хронічної токсичності керувалися результатами, отриманими під час проведення гострої токсичності. Функціональну добавку БК-Т застосовували щоденно, натще; всередину. У досліді препарат вводили щурам протягом 14 діб.

На наступну добу після закінчення введення препарату лабораторних тварин декапітували за легкого ефірного наркозу, відбирали кров для проведення гематологічних і біохімічних досліджень, розтинали і визначали коефіцієнти маси органів, порівняно з контрольною групою.

В результаті проведених досліджень встановлено, що при одноразовому внутрішньошлунковому введенні білим щурам функціональної добавки усі лабораторні тварини залишалися живими. За умов перорального введення встановлено короткочасне пригнічення лабораторних тварин, яким задавали препарат у дозі $0,5 \text{ см}^3$, що пов'язано з великою кількістю препарату. На наступну добу змін в клінічному стані тварин дослідних груп не спостерігали.

Фекальні маси відбирали через 20-30 хвилин після отримання їжі.

Вміст мікроорганізмів у фекаліях білих щурів при згодовування функціональної добавки БК-Т досліджували на початку дослідження, на 7 добу та 14 добу (рис. 7.2)

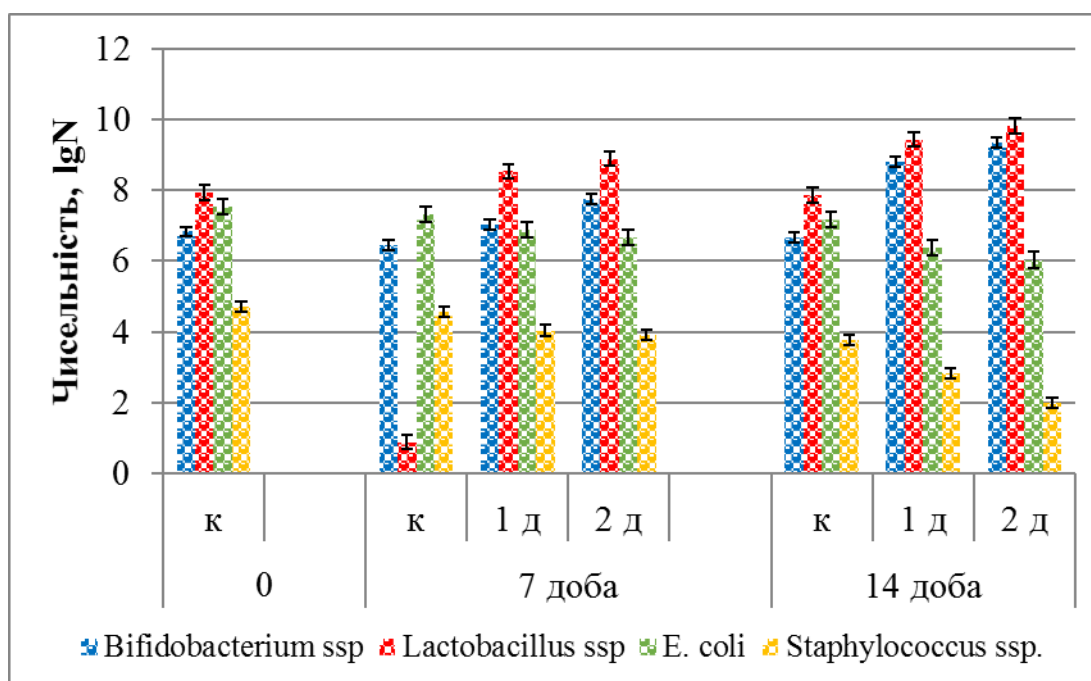


Рис. 7.2. Вміст мікроорганізмів у фекаліях білих щурів за згодовування функціональної добавки

Дослідження мікробіоти вмісту кишківника на початку дослідження показали, що у тварин всіх груп кількість біфідобактерій була на рівні $3,5-6,8 \cdot 10^6$ КУО/г, лактобактерій - $7,4-8,6 \cdot 10^7$ КУО/г, *E. coli* - $1,6-3,4 \cdot 10^7$ КУО/г та стафілококів - $3,2-5,2 \cdot 10^4$ КУО/г.

На 7 добу дослідження встановлено, що у тварин першої та другої дослідної групи кількість біфідобактерій перевищувала кількість біфідобактерій контрольної у 2,04 рази, та у 11,2 рази відповідно. Чисельність

лактобактерій також збільшилась порівняно з контролем. Було відмічено не значне зниження чисельності *E. coli* та *Staphylococcus ssp.*

На 14 добу кількість лакто- та біфідобактерій у тварин першої другої дослідної групи поступову збільшувалась. У контролі було відмічено, що мікроорганізми впродовж досліді залишалися майже на одному рівня.

При проведенні мікробіологічних досліджень було встановлено, що кращою дозою для функціональної добавки БК-Т є $0,5 \text{ см}^3$ на 1 тварину, при цьому відбувається корегування мікробіоти кишківнику в сторону збільшення корисної мікробіоти і зменшення умовно-патогенної. Так на 14 добу дослідження кількість *E. coli* зменшилась майже на 14 % для першої дослідної групи та на 18 – для другої, а *Staphylococcus ssp.* – на 39-57 % [98].

Після цього був проведений розтин, макроскопічний огляд внутрішніх органів тварин (печінки, серця, легенів, селезінки) та визначалася їх абсолютна маса для подальшого розрахунку масових коефіцієнтів (МК).

Встановлено, що коефіцієнти маси внутрішніх органів щурів, яким вводили досліджуваний препарат, суттєво не відрізнялися від контролю (табл. 7.3).

Таблиця 7.3

Показники маси внутрішніх органів білих щурів після застосування функціональної добавки БК-Т на 24 добу дослідження

<i>Показник</i>	<i>Кількість тварин</i>	<i>Печінка</i>	<i>Серце</i>	<i>Легені</i>	<i>Селезінка</i>
Контроль	6	$2,91 \pm 0,06$	$0,29 \pm 0,01$	$0,65 \pm 0,06$	$0,41 \pm 0,03$
Дослід 1	6	$3,01 \pm 0,03$	$0,31 \pm 0,03$	$0,62 \pm 0,03$	$0,37 \pm 0,02$
Дослід 2	6	$2,84 \pm 0,06$	$0,32 \pm 0,03$	$0,58 \pm 0,07$	$0,40 \pm 0,04$

Результати вивчення впливу нової субстанції на систему крові свідчать, що вміст гемоглобіну в крові тварин залишається в нормі, не зареєстровано також змін показників рівня еритроцитів і лейкоцитів. Одержані дані дозволяють зробити висновок, що тривале введення функціональної добавки

БК-Т не обумовлює змін морфологічних показників крові та не змінює рівень гемоглобіну у білих щурів.

Гематологічні показники крові білих щурів під час дослідження не відрізнялись від показників контрольної групи та відповідали фізіологічній нормі [282] для тварин даного виду та віку (табл. 7.4).

Таблиця 7.4

**Гематологічні показники у щурів з різною дозою функціональної добавки,
n=6**

Період дослідження	Доза функціональної добавки								
	0,1 см ³			0,5 см ³			контроль		
	Гемоглобін, г/дм ³	Еритроцити, 10 ¹² /дм ³	Лейкоцити, 10 ⁹ /дм ³	Гемоглобін, г/дм ³	Еритроцити, 10 ¹² /дм ³	Лейкоцити, 10 ⁹ /дм ³	Гемоглобін, г/дм ³	Еритроцити, 10 ¹² /дм ³	Лейкоцити, 10 ⁹ /дм ³
Вихідні дані	117,69± 5,12	6,03± 0,12	11,14± 0,47	126,26± 2,87	5,87± 0,18	11,20± 0,53	122,13± 4,32	5,92± 0,14	11,45± 0,56
Через 14 діб	143,14± 4,06	6,15± 0,18	13,14± 0,87	148,03± 2,87	6,31± 0,21	12,15± 1,11	151,12± 2,17	6,42± 0,31	11,12± 1,12

Усі тварини, яких включено до експерименту, зберігали характерну поведінкову, рухливі, а кількісні показники знаходились у межах фізіологічних коливань. З отриманих результатів видно, що довготривале введення функціональної добавки БК-Т не призводить до порушення реакцій організму.

Таким чином, в результаті проведеного дослідження встановлено, що введення функціональної добавки у дозі 0,5 см³ не призводить до загибелі тварин, не впливає на масові коефіцієнти внутрішніх органів, що вказує на відсутність значимої токсичної дії препарату в даній дозі, та характеризує його як практично нетоксичний (V клас токсичності) відповідно до загальноприйнятої токсикологічної класифікації речовин [282].

Проведені дослідження з визначення токсичної дії функціональних добавок БК-Пт, БК-Т, БК-П на моделі інбредних білих мишей також підтвердили, те що вони не проявляли токсичного впливу організм мишей після застосування рекомендованих «Настановою» доз та за їх десятиразового збільшення (Додаток Ж. 2).

7.2. Механізми біологічної дії функціональної добавки БК-Т на макроорганізм

Отримання і вирощування здорових телят -найважливіша завдання сучасного тваринництва, так як від стану їх здоров'я залежить подальші зростання, розвиток, адаптація до несприятливих факторів навколишнього середовища і максимальна реалізація генетичного потенціалу продуктивності. Телята в перший період життя мають нестабільний обмін речовин і дуже чутливі до якості харчування. Повноцінне годування телят сприяє зростанню тварин і підвищує стійкість тварин до захворювань

За вихідне положення, яким керувалися під час конструювання бактеріальної композиції для тварин було те, що мікроорганізми, які залучаються до складу пробіотика, мають бути “тваринними” за походженням і задовольняти вимоги, що висуваються до пробіотиків.

У фермерському господарстві «Вітас іК», Полтавська обл. з метою профілактики шлунково-кишкових захворювань новонародженим телятам задавали функціональну добавку БК-Т по групам(Додаток З. 5).

Для досліду відібрано дві групи телят (І контрольна та ІІ – дослідна) середньою живою масою 47,4-48,3 кг по 20 голів у кожній. Дослідження проводили впродовж 60 діб. Умови утримання в контрольної і дослідної груп були однаковими: годування дворазове, напування з автопоїлок. У групах були бички і телички. За технологією тварини утримували в клітках спільно. Усі дослідження проводилися у весняний період.

До складу основного раціону телят контрольної групи входили комбікорм, сіно і ЗНМ (див. розділ 2). До основного раціону контрольної групи додавали функціональну добавку БК-Т з розрахунку 35 см³ на голову на добу.

Важливою проблемою в сучасному тваринництві є цілеспрямоване формування нормальної мікробіоти тварин за допомогою пробіотичних препаратів. У зв'язку з цим необхідно вивчення мікробіоти травного тракту під впливом функціональної добавки БК-Т.

Мікробіологічне дослідження фекалій телят включало визначення складу мікробіоти кишечника і типізацію мікроорганізмів (лакто- і біфідобактерії, умовно-патогенних бактерій).

Відбір фекалій для бактеріологічних досліджень проводилось до початку досліду, потім на 60-у добу досліду.

Показники мікробіоти фекалій телят на 60 добу досліду представлені в табл. 7.5.

Мікробіологічні дослідження фекалій телят показали, що в перші дні після народження йде активне заселення кишечника бактеріями групи кишкової палички. У віці 1 доби їх виявлено в кількості: у контрольних телят – $9,05 \pm 0,03$ lg КУО/г, у телят дослідної групи – $9,11 \pm 0,02$ lg КУО/г. кількість біфідобактерій приблизно однаково - у дослідній групі – $7,08 \pm 0,078$ lg КУО/г, у контрольній – $6,97 \pm 0,021$ lg КУО/г, що не суперечить літературним даними [149].

Під впливом функціональної добавки відбувається збільшення чисельності лактобактерій в фекаліях телят дослідної групи. Така ж тенденція і спостерігається у телят з контрольної групи, але в контрольній групі це збільшення відбувається повільніше. На 60 добу досліду встановлено, що кількість лактобацил в дослідних групах достовірно вище, ніж у контрольній групі. В дослідній групі рівень лактобацил в дослідній груп – $10,83 \pm 0,067$ lg КУО/г, тоді як контролі – $9,98 \pm 0,014$ lg КУО/г.

Таблиця 7.5

Середня кількість мікроорганізмів у фекаліях телят дослідної та контрольної груп на 60 добу досліду

Мікроорганізми КУО/г	Група	
	К	Д
МКБ	$(7,5-8,8) \cdot 10^9$	$(5,22-5,44) \cdot 10^{10}$
ББ	$(2,78-3,81) \cdot 10^9$	$(1,45-1,87) \cdot 10^{11}$
кМАФАМ	$(2,09-2,75) \cdot 10^9$	$(4,22-5,14) \cdot 10^9$
<i>Enterobacter ssp</i>	$(2,89-3,11) \cdot 10^7$	$(0,87-1,13) \cdot 10^6$
<i>E.coli</i>	$(2,04-2,31) \cdot 10^8$	$(3,2-5,6) \cdot 10^6$
Стафілококи	$(5,12-5,56) \cdot 10^3$	$(0,16-0,45) \cdot 10^2$
<i>Enterococcus ssp</i>	$(1,8-2,45) \cdot 10^5$	$(0,68-1,03) \cdot 10^5$
<i>Proteus ssp</i>	$(1,04-1,42) \cdot 10^3$	$(0,72-1,5) \cdot 10^2$
Дріжджі	$(5,08-5,35) \cdot 10^4$	$(1,08-2,34) \cdot 10^3$
Плісень	$(4,24-4,78) \cdot 10^2$	$(0,12-0,45) \cdot 10^2$
Клостридії	$(4,04-4,21) \cdot 10^3$	$(3,22-5,89) \cdot 10^2$

Кількість біфідобактерій дослідної і контрольної груп також збільшувалась, у дослідній групі чисельність біфідобактерій становила $9,54 \pm 0,076$ lg КУО/г, а у досліді – $11,23 \pm 0,024$ lg КУО/г. У продовж досліду спостерігали більш інтенсивніше нагромадження біфідобактерій у дослідній групі порівняно з контролем.

При цьому чисельність ешерихій у вмісті кишечника телят дослідних груп знизилася і в середньому склало $6,75 \pm 0,04$ lg КУО/г, що на 56,4 % менше в порівнянні з контролем, а гемолітичні кишкові палички не виявлялися у дослідних телят на 60-ту добу досліджень, тоді як в контролі її чисельність була на рівні $2,36 \pm 0,04$ lg КУО/г.

Дослідженнями А.В.Скорікова та ін. також встановлено, що введення пробіотичного препарату Баксин-вет дозволило провести корекцію мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту телят у бік переважання біфідо- і молочнокислих бактерій та сприяє зменшенню тяжкості і тривалості перебігу гострих кишкових захворювань [276].

У телят усіх груп відмічено наявність мікроорганізмів, які відносяться до умовно-патогенної мікробіоти, а саме - стафілококи, клостридії, дріжджі, які здатні спровокувати захворювання травного тракту молодняка сільськогосподарських тварин.

У телят яким згодовували функціональну добавку БК-Т у фекаліях активно знижувалась: чисельність протей, від 5,01-4,78 lg КУО/г до 2,17 lg КУО/г у досліді, тоді як у контролі до 3,15 lg КУО/г; золотистого стафілокока до рівня 2,65 і 3,74 lg КУО/г; ентерококів – 5,01 і 5,39 lg КУО/г. Ще більш помітним було зниження клостридій з 4,48 – 4,35 lg КУО/г до 2,77 і 3,62 lg КУО/г.

Таким чином, використання функціональної добавки БК-Т в раціонах телят створює сприятливі умови для розвитку представників нормофлори.

Встановлено, що становлення мікробіоти кишечника новонароджених телят контрольної і дослідної груп відрізнялося за складом кишкового біоценозу. Показано, що у телят, які отримували функціональну добавку БК-Т, з віком закономірно збільшувалася чисельність популяцій корисної мікробіоти і зменшувалася кількість умовно-патогенної.

7.3 Вплив функціональної добавки БК-Т на гемолітичні показники крові та продуктивність телят

Для контролю за живою масою телят проводили їх індивідуальне зважування на початку і наприкінці кожного періоду вирощування. За даними зважувань розраховували загальні і середньодобові прирости.

Проведено морфо-біохімічний аналіз крові піддослідних тварин, для цього наприкінці досліді було відібрані зразки крові у 5 -х голів з кожної групи.

Аналізуючи дані показників крові телят можна відзначити, що всі вони перебували в межах фізіологічної норми (табл. 7.6). Але були і незначні відмінності між групами. Так, встановлено вищий рівень гемоглобіну в крові телят дослідної групи і меншу лейкоцитів і еритроцитів. Кількість загального

білку було вище в II дослідній групі. Глюкоза знаходилася порівняно на однаковому рівні у телят I і II груп, що характеризує повноцінність і збалансованість раціону [92].

Важливими показниками резистентності організму є гуморальні фактори захисту, оскільки зовнішня абіотична дія на тварин супроводжується обумовленими змінами як БАСК, так і ЛАСК. По їх рівню можна достовірно судити про неспецифічну резистентність в організмі телят.

Таблиця 7.6

Показники крові дослідних телят

Показники	Група	
	I контрольна	II дослідна
Еритроцити, $10^{12}/\text{дм}^3$	$7,05 \pm 1,13$	$6,98 \pm 1,08$
Гемоглобін, г/дм ³	$92,9 \pm 3,42$	$99,5 \pm 3,15$
Лейкоцити, $10^9/\text{дм}^3$	$10,1 \pm 0,98$	$9,3 \pm 0,67$
Загальний білок, г/дм ³	$75,0 \pm 2,32$	$78,8 \pm 2,03$
Глюкоза, ммоль/дм ³	$4,2 \pm 0,18$	$4,3 \pm 0,08$
Сечовина, ммоль/дм ³	$4,7 \pm 0,95$	$3,3 \pm 0,76$
БАСК, %	$40,24 \pm 2,43$	$48,08 \pm 2,78$
ЛАСК, %	$28,15 \pm 1,22$	$34,6 \pm 1,56$

З таблиці 7.6 видно, що додавання до основного раціону телят функціональної добавки впливає на показники БАСК і ЛАСК. Вищі значення вказаних показників виявлені у II дослідній групі, що дає підставу припустити інтенсивніший розвиток і підвищений рівень імунітету у даних тварин. Рівень сечовини в крові телят дослідної групи виявився нижче порівняно з контрольною групою; це можна пояснити нормалізацією білкового обміну в організмі тварин, які отримували функціональну добавку [92].

Інтегральним показником успішного вирощування телят є приріст біомаси. Дослідженнями встановлено, що середньодобові прирости телят контрольної групи склали 637 г. Збагачення корму контрольної групи функціональною добавкою забезпечило підвищення середньодобових приростів маси тварин до 691 г, або на 8,6 % вище, ніж у контрольній групі (таблиця 7.7) [383].

Як свідчать дані таблиці 7.7 та рис. 7.3 телята обох груп важили майже однаково, а саме 48,3 кг та 47,4 кг, подальший їх розвиток різнився. Вага телят контрольної групи була більшою ніж дослідної на 20 добу досліду на 0,8 кг. На 40 добу досліду телята дослідної групи почали інтенсивніше набирати вагу і на 60 добу досліду перевищували контрольну групи на 2,4 кг.

Таблиця 7.7

Жива маса і середньодобові прирости піддослідних телят

Показник	Група	
	I контрольна	II дослідна
Жива вага на початок досліду, кг	48,3±0,4	47,4±0,54
Жива вага через 20 діб, кг	59,7±1,18	58,9±1,22
Жива вага через 40 діб, кг	73,8±1,55	74,4±1,58
Жива вага через 60 діб, кг	86,5±1,32	88,9±1,32
Приріст, кг	38,9±0,43	41,1±1,53
Середньодобовий приріст за 20 діб, г	536,6±58,4	553±77,96
Середньодобовий приріст за 40 діб, г	630±49,07	671,6±46,75
Середньодобовий приріст за 60 діб, г	634±21,50	685,7±25,53
У % до контролю	100	108,6

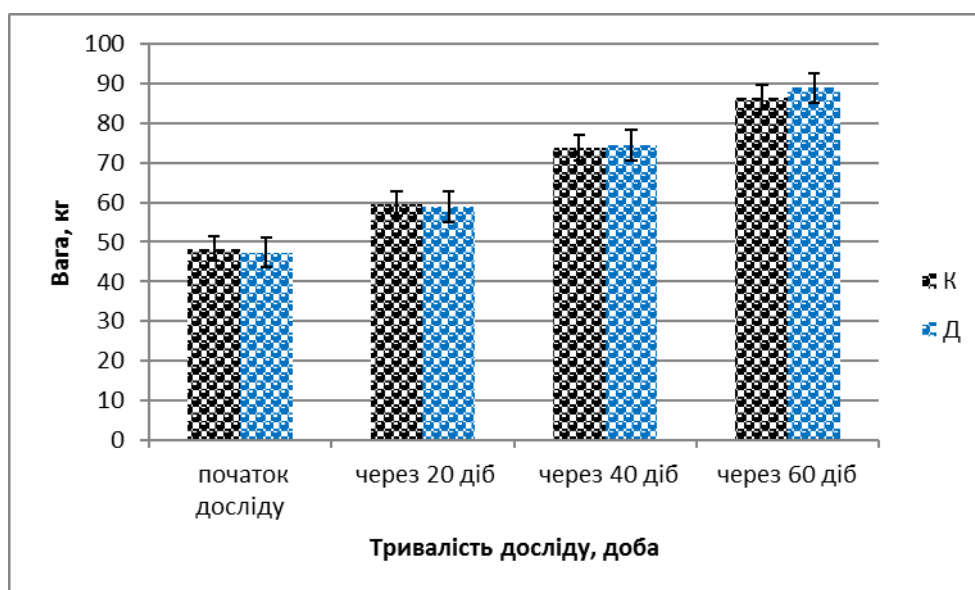


Рис 7.3. Динаміка живої маси піддослідних телят

Про інтенсивність росту телят також свідчать середньодобові прирости маси телят. Так, за 60 днів дослідів, найбільш інтенсивно набирали вагу телята дослідної групи.

Середньодобові прирости живої маси телят контрольної групи, за вказаний періоди були нижче: через 20 днів — 570 г, через 40 діб — 638 г, та 60 діб — 637 г, ніж у дослідній.

7.4 Визначення терапевтичної ефективності функціональної добавки БК-Т

З метою профілактики шлунково-кишкових захворювань новонародженим телятам проведені заходи зі застосуванням бактеріального концентрату «Симбілакт-М» та новоствореної функціональної добавки БК-Т. Бактеріальний препарат «Симбілакт-М» сумішшю ліофільно висушених культур (*B. bifidum*, *Pr. freudenreichii*, *Ac. aceti*, *L. lactis* subsp. *diacetylactis*, *S. thermophilus* та *L. acidophilus*). В 1 г препарату міститься: молочнокислих мікроорганізмів - $2 \cdot 10^{10}$ КУО, біфідобактерій - $1 \cdot 10^{10}$ КУО, пропіоновокислих бактерій - $3 \cdot 10^7$ КУО, оцтовокислих бактерій - 10^5 КУО (розділ 2).

Результати застосування функціональних добавок представлені в табл. 7.8

Таблиця 7.8

Схема дослідів

Група	Кількість телят, голів	З них			
		хворіло		вижило	
		голів	%	голів	%
I дослідна (додавали «Симбілакт-М»)	24	2	8	24	100
II дослідна (додавали ФД БК-Т)	18	4	22	17	100
контрольна	10	6	60	10	100
всього	52				

При лікуванні ШКХ з використанням функціональної добавки БК-Т термін одужання тварин становив 2-3 доби, а збереженість тварин 100 %. При

лікуванні тварин контрольних груп, яким задавали антибіотики, термін лікування становив 4-7 діб, збереженість – 100 %.

Для профілактики шлунково-кишкових хвороб функціональну добавку БК-Т та Бактеріальний концентрат «Симбілакт-М» згодовували телятам з першого дня їх життя. Встановлено, що у Д I 8 % телят, а у Д II – 22 % відмічено симптоми ШКХ, тоді як у контрольній групі клінічні симптоми ШКХ відмічені у 60 % тварин.

Під час проведення досліджень фіксували всі випадки захворювання дослідних телят і тривалість хвороби. Захворюваність визначали шляхом зіставлення залишкового числа всіх тварин у кожній групі з числом хворих. Поширення і тяжкість перебігу хвороби - за коефіцієнтом Мелленберга (КМ).

При проведенні досліджень було встановлено вплив даної добавки на збереження і захворюваність дослідних тварин (таблиця 7.9). Встановлено, що у телят обох груп, до раціону яких додавали функціональну добавку, збереженість впродовж всього досліду становила 100%, але рівень захворюваності був нижчим у молодняку дослідної групи.

Таблиця 7.9

Збереженість та захворюваність дослідних телят

№ п/п	Показник	Од. вим.	Група		
			Д I	Д II	К
1	Кількість телят в групі:				
	На початок досліду	гол.	24	18	10
	На кінець досліду	гол.	24	18	10
2	Збереженість телят	%	100	100	100
3	Захворюваність	%	8	22	60
4	Захворюваність за коефіцієнтом Мелленберга	од.	0,42	0,27	4
5	Захворіло	гол.	2	4	6
6	Середня кількість днів хвороби	доба.	3	1	4

Протягом досліджень реєструвалися всі випадки захворювання телят. Прояви хвороби фіксували у телят всіх піддослідних груп, однак найбільш

сприйнятливими до захворювання були тварини контрольної групи, у яких тривалість хвороби склала 4 доби, проти 3 та 1 днів в дослідних групах.

Поширення і тяжкість перебігу хвороби найбільш об'єктивно характеризується коефіцієнтом Меленберга.

Коефіцієнт Мелленберга в дослідних групах склав 0,42 і 0,27 проти 4 у контрольній групі, що свідчить про більш високу тяжкості перебігу захворювань.

З отриманих даних випливає, що застосування бактеріальних препаратів телятам попереджує захворювання органів ШКТ, знижує тривалість хвороби і коефіцієнт Мелленберга.

У групах телят, яким вводили функціональні добавки з метою підвищення ефективності засвоєння корму та стимуляції росту, відмічено істотне підвищення апетиту. Застосування препаратів в період адаптації тварин до нових умов утримання та різних стресових ситуацій призводило до скорочення терміну адаптації, запобігало захворюваності, сприяло підвищенню їх продуктивності.

Отримані результати свідчать про профілактичну ефективність застосування функціональних добавок новонародженим телятам у перші дні після народження. Порівняно з контролем в дослідних групах шлунково-кишкові захворювання телят виникали в декілька разів рідше. Якщо вони і проявлялись, то їх перебіг був значно легшим і тварини швидше виліковувались. У контрольній групі у більшості телят спостерігали розлади діяльності шлунково-кишкового тракту, які протікали важче, трудніше вилікувались.

Водночас вищою ефективністю характеризувалася функціональна добавка БП-Т порівняно з бактеріальним препаратом «Симбілакт».

Таким чином, функціональна добавка БК-Т на основі 4 високоактивних штамів: *B. infantis* 4302, *B. animalis* 4506, *L. acidophilus* 3137, *L. paracasei* 3801, виділених з кишківника здорових телят, характеризується профілактичним ефектом при шлунково-кишкових захворюваннях у новонароджених телят та

доцільно застосовувати її новонародженим телятам в перший день після народження як лікувально-профілактичний засіб проти розладів шлунково-кишкового тракту.

7.5 Вплив функціональної добавки БК-Т на продуктивність телят

Маса тварин при народженні - важлива ознака і є показником подальшого розвитку організму. У таблиці 7.10 наведено динаміку живої маси дослідних тварин

Таблиця 7.10

Динаміка живої маси піддослідних бичків, кг

<i>Вік, міс</i>	<i>Група</i>	
	<i>Д</i>	<i>К</i>
При народженні	23,78±0,88	23,26±0,78
3	108,18±0,91	101,74±0,77
6	179,79±1,28	168,66±1,82
12	335,51±2,81	315,66±1,75

З даних таблиці 9 видно, що жива маса бичків при народженні була практично однаковою і між групами достовірної різниці не виявлено. Однак в процесі подальшого зростання від народження до 12 місяців, бички дослідної групи за живою масою перевершували однолітків контрольної групи на 19,85 кг. Аналогічна тенденція відзначена і за середньодобовими приростів живої маси (табл. 7.11).

Таблиця 7.11

Середньодобові прирости дослідних бичків, г

<i>Період вирощування, міс</i>	<i>Групи</i>	
	<i>Д</i>	<i>К</i>
0-3	937,4±2,76	868,2±1,88
3-6	795,6±6,73	743±7,30
6-12	865,0±8,71	816±8,48
0-12	854,04±4,03	799,8±2,89

З даних таблиці 7.11 видно, що бички дослідної групи, які отримували функціональну добавку БК-Т в період підсосу, характеризувалися високими

середньодобовими приростами в порівнянні з однолітками контрольної групи. Перевищення середньодобового приросту живої маси бичків дослідної групи порівняно з молодняком контрольної становило 48,0-71,0. Найвищим середньодобовим приростом характеризувався період від 0 до 3 місяців, у цей період дослідні телята перевищували своїх однолітків за вагою на 6,7 %. Середньодобовий приріст живої маси за весь період вирощування склав у бичків дослідної групи 853 г, а контрольної – 799 г.

7.6 Клінічні та гематологічні показники

У наших дослідженнях виявлено, що кількісний та якісний склад крові, закономірно змінюється, в залежності від віку (табл. 7.12).

Таблиця 7.12

Гематологічні показники крові у телят після застосування функціональної добавки БК-Т

Показники	Група	
	I контрольна	II дослідна
При народженні		
Еритроцити, $10^{12}/\text{дм}^3$	$7,71 \pm 0,81$	$8,33 \pm 1,17$
Гемоглобін, г/дм ³	$106,35 \pm 11,68$	$103,91 \pm 11,79$
Лейкоцити, $10^9/\text{дм}^3$	$9,47 \pm 1,37$	$8,39 \pm 1,22$
Загальний білок, г/дм ³	$58,43 \pm 0,89$	$58,65 \pm 0,59$
В 3-х місячному віці		
Еритроцити, $10^{12}/\text{дм}^3$	$7,77 \pm 2,83$	$9,54 \pm 1,18$
Гемоглобін, г/дм ³	$105,94 \pm 11,46$	$106,41 \pm 8,98$
Продовження таблиці 7.12		
Лейкоцити, $10^9/\text{дм}^3$	$9,57 \pm 0,56$	$10,45 \pm 1,04$
Загальний білок, г/дм ³	$63,22 \pm 1,84$	$62,51 \pm 1,81$
В 6 місячному віці		
Еритроцити, $10^{12}/\text{дм}^3$	$8,33 \pm 0,13$	$8,75 \pm 0,69$
Гемоглобін, г/дм ³	$115,71 \pm 11,58$	$112,38 \pm 6,22$
Лейкоцити, $10^9/\text{дм}^3$	$10,58 \pm 1,05$	$11,05 \pm 1,35$
Загальний білок, г/дм ³	$69,52 \pm 2,84$	$70,02 \pm 1,75$
В 12 місячному віці		
Еритроцити, $10^{12}/\text{дм}^3$	$9,47 \pm 1,13$	$10,41 \pm 0,99$
Гемоглобін, г/дм ³	$113,1 \pm 6,31$	$117,79 \pm 11,59$
Лейкоцити, $10^9/\text{дм}^3$	$7,09 \pm 0,60$	$7,26 \pm 0,13$
Загальний білок, г/дм ³	$73,05 \pm 4,22$	$76,11 \pm 0,67$

Із даних таблиці 7.12 видно, що гематологічні показники крові піддослідних бичків в усі періоди вирощування знаходились в межах фізіологічної норми, але між групами спостерігалися певні розбіжності.

При аналізі морфологічних показників значну перевагу мали бички дослідної групи в порівнянні з тваринами контрольної групи. Підвищений вміст гемоглобіну, еритроцитів і лейкоцитів у бичків дослідної групи можна розглядати як фактор більш інтенсивних окисно-відновних процесів в організмі тварин, що підтверджується взаємозв'язком морфологічних показників крові з приростом живої маси і узгоджуються з даними [316].

Кількість загального білка в сироватці крові у всіх піддослідних тварин з віком збільшується з 103,91 г/л до 117,79 г/л.

7.7 М'ясна продуктивність бичків

М'ясна продуктивність - це кількість і якість м'ясної продукції, одержуваної при забої тварин. Основними показниками м'ясної продуктивності худоби - маса туші, забійний вихід і якість туш.

Чим більше маса туші, отримана за відносно короткий період росту тварини, тим ефективніше і економніше його вирощування.

М'ясну продуктивність бичків вивчали за результатами контрольного забою 3 голів з кожної групи у віці 12 місяців (табл. 7.13).

Таблиця 7.13

Показники контрольного забою бичків (n=3)

Показник	Групи	
	Д	К
Перед забійна маса, кг	335,17±3,07	315,02±3,87
Маса парної туші, кг	188,21±2,87	172,66±2,2
Забійна вага, кг	200,91±3,09	187,71±3,11
Вихід туші, %	56,15	54,81
Забійний вихід, %	59,94	59,39

Результати контрольного забою показали, що найбільшу масу туші мали бички дослідної групи. Різниця в їх користь в порівнянні з однолітками контрольної групи за показником забійної ваги склала 13,2 кг (6,58 %).

Вихід туші у бичків дослідної групи був більшим ніж у аналогів контрольної групи та склав 56,15 % в порівнянні 54,81 % у контролі.

Відомо, що м'ясо великої рогатої худоби (яловичина і телятина) користується великим споживчим попитом завдяки його відмінних смакових та харчових якостей. При цьому склад яловичини і телятини істотно відрізняється від баранини і свинини. Оскільки містить більше незамінних амінокислот, жирних кислот, мінеральних речовин та менше холестерину. Отже, в порівнянні з іншими видами м'яса, яловичина має більшу поживну цінність, а її засвоюваність становить майже 95%.

7.8. Економічні показники вирощування та відгодівлі бичків

Зміни живої маси помісних бичків і витрати кормів за період досліду представлені в таблиці 7.14.

Як видно з представленої у таблиці 7.14, використання функціональної добавки БК-Т при вирощуванні молодняку великої рогатої худоби до 12 місячного віку, позитивно впливає на збереження, приріст живої ваги. Так, на 12 місяць вирощування, середня жива маса контрольних бичків досягла 315,66 кг, тоді як у дослідній групі цей показник склав 335,51 кг, що більше на 6,4 %.

7.9 Хімічний склад туші.

Яловичина молодняка характеризується світло-червоним кольором, білим жиром, м'якою і ніжною м'язовою тканиною. Добре вгодовані молоді тварини мають підшкірні і внутрішні відкладання жиру, а на розрізі тазостегнової частини туші помітні між м'язові прошарки жиру. До основних хімічних показників, що характеризують якісні показники м'яса відносяться вміст води, протеїну, жиру і мінеральних речовин. Важливою характеристикою м'яса є його калорійність, яка залежить від вмісту в м'ясі жиру.

Таблиця 7.14.

Результати обліку інтенсивності росту дослідних бичків

<i>Показник</i>		<i>Група</i>	
		<i>Д</i>	<i>К</i>
Кількість бичків, гол	на початку досліджу	25	25
	на кінець досліджу	25	25
	збереженість, %	100	100
Жива вага, кг	на початку досліджу	23,78±0,88	23,26±0,78
	на кінець досліджу	335,51±2,81	315,66±1,75
Приріст живої ваги за період досліджу	абсолютний, кг	311,73±2,45	292,4±2,11
	середньодобовий, г	853±10,19	799±11,77
	% до контролю	106,6	100
Економічні показники, грн	Собівартість 1 кг яловичини, грн	25,3	25,8
	Собівартість валового приросту, грн	7886,7	7543,9
	Виручка від реалізації яловичини, грн	9964,6	9375,1
	Прибуток від реалізації приросту, грн	2077,9	1831,2-
	Економічний ефект в перерахунку на 1 голову, грн	589,3	-
	Рентабельність, %	26,3	24,2

* **Примітка** – закупівельна вартість 1 кг яловичини у 2015р становила 29,7 грн.

Проби м'яса аналізували через 48 годин після забою тварин, коли відносно стабілізувались основні фізіологічні і хімічні процеси в м'язовій тканині (табл. 7.15).

Порівнюючи отримані дані за хімічним складом і калорійністю м'якоті туш між бичками дослідних груп, можна констатувати, що статистично достовірної різниці не встановлено. Однак слід зазначити, що в м'язовій тканині тварин дослідних груп встановлено загальну тенденція збільшення сухої речовини, протеїну та жиру а, отже, і калорійності. Так, за змістом протеїну в м'ясі бичків контрольної групи поступалися одноліткам дослідної групи на 1,46

%. За змістом сухої речовини тварини дослідної групи перевершували аналогів з контрольної групи на 1,91 %.

Таблиця 7.15

Хімічний склад м'якушевої частини

<i>Показник</i>	<i>Група</i>	
	<i>К</i>	<i>Д</i>
Волога, %	66,76±0,89	65,42±0,91
СР, %	33,24	34,58
Протеїн, %	18,88±0,19	20,34±1,01
Жир, %	12,02±0,81	11,92±0,23
Зола, %	1,66±0,41	2,32±0,57
Співвідношення вода:протеїн	3,52	3,21
Співвідношення вода:жир	5,55	5,48
Співвідношення протеїн: жир	1,57	1,72
Показник стиглості, %	17,01	18,02
Калорійність, ккал/кг	1892,52	1942,81

У своїх дослідженнях [190, 311] встановили, що співвідношення протеїну і жиру в якісному м'ясі повинно становити 1:1 або 1:0,7, тобто вміст протеїну становить від 18 до 21%, а жиру від 12 до 18%. Тому за хімічним складом м'ясо дорослої худоби має наступні показники: білок від 17 до 20 %, вода від 59 до 66%, жир від 11 до 13% і зола до 1%

Співвідношення протеїну і жиру в м'ясі бичків дослідної групи склало 1: 0,58, а в контрольній - 1:0,64. М'ясо дослідних бичків злегка не досягає ідеальних показників біологічної збалансованості завдяки невеликому вмісту жиру 11,92% і співвідношенню 1: 0,58. Відомо, що повноцінним, з біологічної точки зору є м'ясо з вмістом 10-12% жиру (відношення білка і жиру в хорошому м'ясі повинно мати пропорцію (1:(0,6-0,7))). За даним показником, найбільш близьким показником по збалансованості було м'ясо дослідної групи.

Калорійність м'яса досліджуваних тварин перебувала в межах 1892,52-1942,81 ккал на 1 кг. При цьому бички дослідної групи перевершували аналогів з контрольної групи на 50,29 ккал. За показником стиглості м'яса (співвідношення вологи і жиру в середній пробі), найбільшою зрілістю м'яса характеризувалися бички дослідної групи 18,02 %, а у контрольних – 17,01%. де ПСМ - показник стиглості м'яса.

М'ясо вважається зрілим, якщо його показник стиглості дорівнює 20 ± 5 . Йому відповідає м'ясо вищої і середньої вгодованості.

Для більш повної характеристики якості м'яса, вивчили біохімічний склад найдовшого м'язу спини бичків (табл. 7.16).

Як показали результати досліджень, у складі найдовшого м'язу спини за вмістом сухого речовини, білка і жиру у 12 місячних бичків відзначалися певні відмінності.

Таблиця 7.16

Хімічний склад найдовшого мускулу спини

Показник	Група	
	Д	К
Волага, %	73,49 \pm 1,31	74,76 \pm 0,99
СР, %	26,51	25,24
Жир, %	1,93 \pm 0,35	1,27 \pm 0,68
Протеїн, %	22,42 \pm 0,56	21,72 \pm 1,14
Зола, %	2,16 \pm 0,87	2,25 \pm 0,29
Вологоутримуюча здатність, %	63,45 \pm 0,78	61,08 \pm 1,45
Уварюваність, %	31,25\pm0,32	33,70\pm0,80
pH ₀	5,96 \pm 0,14	6,04 \pm 0,21
pH ₂₄	5,57 \pm 0,06	5,65 \pm 0,08
a_w	0,965 \pm 0,002	0,96 \pm 0,002
Енергетична цінність 1 кг м'яса, мДЖ	4,45	3,76

Вивчення хімічного складу і деяких фізико-технологічних властивостей найдовшого м'язу спини свідчить, що у бичків дослідної групи вміст вологи була на 1,7 % менше ніж у бичків контрольної групи, кількість протеїну зросла на 3,2 %. Відмічено збільшення кількості сухої речовини і внутрішньм'язового

жиру при одночасному зниженні вмісту вологи. Це відбилося і на енергетичній цінності найдовшого м'язу спини. Зокрема, у бичків дослідної групи енергетична цінність 1 кг м'язу становила 4,45 МДж, що вище, ніж у однолітків контрольної групи на 18,4 %.

Харчова цінність яловичини залежить від співвідношення в ній окремих тканин (сполучної, м'язової, жирової, кісткової), найбільш цінна – м'язова. Її маса позитивно корелюється ($r = 0,65$) з масою туші і залежить від генетичної основи, віку і вгодованості тварин. Харчова та енергетична цінність їстівних частин тіла з віком тварин зростає за рахунок зменшення долі вологи і відповідно збільшення сухої речовини і в першу чергу, жиру.

Одним із важливих показників, які характеризують якість м'яса, є кислотність (pH), за яким судять про його товарний вигляд а також придатність. Концентрація іонів водню залежить від вмісту в м'язах глікогену в момент забою але, є характеристикою фізіологічного стану тварини перед забоєм. У дослідних зразках pH через 24 години дозрівання м'яса знизився і був приблизно на одному рівні – 5,57-5,65, що свідчить про те, що продукти, вироблені з даного м'яса, будуть піддаватися менш тривалій термообробці за рахунок більш активної деструкції колагену в кислому середовищі і продукт вийде ніжнішим і соковитішим. Кислотність м'яса через 24 години після забою має високий позитивний зв'язок із показниками вологоутримуючої здатності м'яса через 24 години ($r = 0,74$).

Для характеристики стану вологи в продукті дедалі ширше застосовують показник активності води a_w , який залежить від кількості зв'язаної води і гігроскопічних властивостей виробів. Знання і спрямоване використання особливостей зв'язаної води різною білковмісною сировиною дає змогу прогнозувати такі показники, як вихід виробів, рівень втрат вологи при термообробці, органолептичні характеристики тощо.

Соковитість м'яса пов'язана з вологоутримувальною здатністю (вологоемкість) м'яса і вмістом в ньому внутрім'язевого жиру. Чим вища вологоутримувальна здатність м'яса, тим менше воно буде втрачати води

(м'ясного соку) за теплової обробки і, відповідно, соковитішим буде готовий продукт. В проведених дослідженнях даний показник був достатньо високим і складав для дослідних зразків 63,45 % та для контрольного 61,08 %.

М'ясо з пониженою вологоутримувальною здатністю значно втрачає свою цінність як сировина для м'ясопереробки.

Величина ж уварюваності служить додатковим показником якості м'яса, що показує втрату вологи за теплової обробки.

Вологоутримувальна здатність знаходиться в прямій залежності від концентрації іонів водню (рН) і в зворотному – від показника втрат м'ясного соку при нагріванні (уварюваність). Відмічено тісний кореляційний зв'язок між вологоутримуючою здатністю та уварюваністю ($r = 0,54-0,58$).

Вищою вологоутримувальною здатністю і меншою втратою вологи за теплової обробки характеризувалась м'язова тканина бичків дослідної групи. Показник уварюваності склав відповідно 33,70 % і 31,25 %, що нижче, ніж у контролі, на 2,45 %, тобто м'ясо від дослідної групи мало кращі кулінарно-технологічні показники.

Однією з важливих характеристик м'яса є його консистенція — соковитість, яка залежить від наявності сполучної тканини, вмісту внутрішньом'язового жиру, розміру м'язових пучків і діаметра м'язових волокон, стану м'язових білків — ступеня їх гідратації, асоціації міозину і актину, рівня деструкції білків.

Таким чином, використання функціональної добавки при вирощуванні бичків, сприяє підвищенню інтенсивності росту, поліпшення біохімічного складу крові, стану кишкового травлення, м'ясної продуктивності і якості м'яса.

7.10 Амінокислотний склад

Біологічна цінність визначається співвідношенням і вмістом в м'ясі незамінних амінокислот, що входять до складу білків, які є в свою чергу високо засвоюваним і біологічно цінним будівельним матеріалом для людського

організму. В результаті дослідження амінокислотного складу м'яса досліджуваних тварин, була оцінена біологічна цінність яловичини (табл. 7.17).

Таблиця 7.17

Амінокислотний склад м'яса дослідних тварин, мг/100 г білку

Показник	К	Д
Незамінні амінокислоти		
Ізолейцин	865,44	867,27
Лейцин	1702,13	1499,44
Лізин	1575,62	1708,93
Метіонин	647,85	543,10
Цистин	185,55	186,71
Валін	1075,65	1060,30
Триптофан	366, 28	477,84
Фенилаланин	870,68	834,94
Тирозин	979,24	838,90
Всього	7902,16	8017,43
Замінні амінокислоти		
Аспарагінова кислота	2280,75	2348,32
Треонін	1040,42	1008,80
Серин	1130,17	934,94
Глутамінова кислота	3799,40	3527,77
Гліцин	809,11	810,93
Аланін	792,41	1260,73
Гістидин	1440, 99	1010,26
Аргінін	1361,44	1372,06
Пролін	459,81	507,74
Оксіпролін	72,0	57,0
Всього	11745,51	12838,55
Амінокислотний індекс	0,673	0,624

Результати показують, що м'ясо дослідної групи бичків перевершувало м'ясо бичків групи за вмістом незамінних амінокислот на 1,5 % та за вмістом замінних амінокислот – 9,3 %.

В цілому амінокислотний склад м'яса піддослідних тварин дуже подібний. Зміни в амінокислотному складі м'яса обумовлені в основному коливаннями замінних кислот. В цілому при такій відгодівлі спостерігалася велика подібність амінокислотного складу найдовшого м'яза спини у бичках.

Підсумовуючи наведені дані, можна зробити висновок, що значної різниці в амінокислотному складі протеїну м'яса у тварин при додаванні функціональної добавки або без додавання не було.

Важливо оцінювати якість протеїну м'яса також за відносним вмістом в ньому окремих амінокислот залежно від живої маси. Для такого аналізу нами використано співвідношення у білку м'яса незамінних і замінних амінокислот.

Співвідношення незамінних і замінних амінокислот може бути показником повноцінності білків м'яса залежно від різних факторів. Співвідношення незамінних амінокислот у загальній сумі амінокислот в середньому за обох груп була майже однакова: 0,67 та 0,62 тобто біологічна повноцінність білків м'яса однакова.

Слід також відмітити, що сума незамінних амінокислот у білку м'яса телят в цілому завжди переважає кількість замінних амінокислот.

Висновки до розділу 7

1. Встановлено, що введення функціональної добавки БК-Т у дозі 0,5 см³ білим щурах не призводить до загибелі тварин, не впливає на масові коефіцієнти внутрішніх органів, та характеризує її як практично нетоксичною (V клас токсичності) відповідно до загальноприйнятої токсикологічної класифікації речовин; доведено, що функціональна добавка БК-Т належить до 4-го класу токсичності, тобто до малотоксичних речовин. Тривале ведення функціональної добавки у терапевтичній дозі не впливає на функціональний стан внутрішніх органів.

2. Доведено, що з метою профілактики шлунково-кишкових захворювань новонародженим телятам рекомендується вводити функціональну добавку БК-Т з розрахунку 100-150 см³ після першого випоювання молозива.

3. Мікробіологічне дослідження фекалій телят показало, що в перші дні після народження йде активне заселення кишечника бактеріями групи кишкової палички, кількість біфідобактерій - у дослідній групі – $7,08 \pm 0,078$ lg КУО/г, у контрольній – $6,97 \pm 0,021$ lg КУО/г. Під впливом функціональної добавки відбувається збільшення чисельності лактобактерій в фекаліях телят дослідної групи. Така ж тенденція і спостерігається у телят з контрольної групи, але в контрольній групі це збільшення відбувається повільніше.

4. Аналіз даних показників крові телят показав, що всі вони перебували в межах фізіологічної норми, проте спостерігали незначні відмінності між групами. Так, встановлено вищий рівень гемоглобіну в крові телят дослідної групи і меншу лейкоцитів і еритроцитів. Кількість загального білку було вище в дослідній групі.

5. Встановлено, що коефіцієнт Мелленберга в дослідній групі склав 0,27 проти 4,00 у контрольній групі, що свідчить про вищу тяжкість перебігу захворювань. Показано, що жива маса бичків при народженні була практично однаковою і між групами достовірної різниці не виявлено, через 12 місяців, вихід туші у бичків дослідної групи був більшим на 1,34 % ніж у контрольній групі. Вміст протеїну в м'ясі бичків контрольної групи поступався одноліткам дослідної групи на 1,46 %, вміст сухої речовини – на 1,91 %.

6. Показано, що бички дослідної групи, які отримували функціональну добавку БК-Т в період підсосу, характеризувалися високими середньодобовими приростами в порівнянні з однолітками контрольної групи.

7. Вивчення хімічного складу і фізико-технологічних властивостей найдовшого м'язу спини свідчить, що у бичків дослідної групи вміст вологи був на 1,7 % менше ніж у бичків контрольної групи, кількість протеїну зросла на 3,2 %; енергетична цінність 1 кг м'язу становила 4,45 МДж, що вище, ніж у однолітків контрольної групи на 18,4 %.

8. Прибуток від реалізації сировини становить 589,3 грн на 1 голову. Функціональну добавку БК-Т на основі 4 високоактивних штамів: *B. infantis* 4302, *B. animalis* 4506, *L. acidophilus* 3137, *L. paracasei* 3801, виділених з кишківника здорових телят, доцільно застосовувати при шлунково-кишкових захворюваннях у новонароджених телят та новонародженим телятам в перший день після народження як лікувально-профілактичний засіб проти розладів шлунково-кишкового тракту.

РОЗДІЛ 8. СЕЛЕКЦІЯ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ, ЯКІ Є ПЕРСПЕКТИВНИМИ ДЛЯ ФЕРМЕНТУВАННЯ М'ЯСНИХ ПРОДУКТІВ

8.1. Характеристика мікробіоти м'ясних виробів

Біотехнологічні процеси з використанням мікроорганізмів і ферментів уже на сучасному технічному рівні широко застосовуються у харчовій промисловості. Частину традиційних промислових технологій замінюють технологіями, що передбачають застосування мікроорганізмів [38].

Використання біологічно активних мікроорганізмів є одним з перспективних напрямків для виробництва м'ясних к виробів, їх застосування сприяє поліпшенню якісних показників готового продукту.

Проведено цілеспрямовану селекцію біохімічно-активних штамів мікроорганізмів, перспективних для використання у виробництві ферментованих м'ясних продуктів, за такими показниками, як: нітритредукуюча та каталазна активності, енергія кислотоутворення, солестійкість, здатність до нагромадження ароматичних сполук, антагоністична активність по відношенню до сторонньої мікробіоти, в тому числі і умовно патогенної та патогенної мікробіоти [149].

Для мікробіологічного дослідження було відібрано доброякісну м'ясну сиров'ялену та сирокочену продукцію, виготовлену непромисловим способом, мікробіота якої була сформована природним шляхом.

Дослідження проводили за схемою, яка передбачала виділення перспективних для промисловості штамів грампозитивних каталазо-позитивних коків, молочнокислих бактерій яку проводили кількома етапами. Спочатку одержували накопичувальні культури висіванням зразків ковбас у селективні поживні середовища та культивуванням за температури 30°C. Такий підхід сприяє відбору і нагромадженню різних груп бактерій у відповідних середовищах [209, 399, 106].

Паралельно було виконано стандартне бактеріологічне дослідження кожного продукту на наявність санітарно-показової (БГКП, сульфітредукувальні клостридії, *Proteus ssp.*), умовно-патогенної (*S.aureus*) та патогенної мікробіоти (бактерії родів *Salmonella*, *Listeria*) та визначено кількість дріжджів; в обстежених зразках вищеперераховані мікроорганізми були відсутні і це є позитивною ознакою, яка свідчить про високий рівень санітарно-гігієнічних умов виробництва цих продуктів. Кількість дріжджів у всіх зразках була не значна і становила – $(6,0 \times 10^1 - 1,2 \times 10^4)$ КУО/г.

Встановлено, що у мікробіоті сиров'яленої яловичини превалювали такі групи мікроорганізмів: МКБ – $(5,01 \times 10^4 - 1,28 \times 10^6)$ КУО/г, КПК – $(3,98 \times 10^3 - 1,78 \times 10^4)$ КУО/г; сиров'ялені зі свинини МКБ – $(2,5 \times 10^3 - 1,6 \times 10^6)$ КУО/г, КПК – $(5,0 \times 10^3 - 6,3 \times 10^5)$ КУО/г; сирокочені зі свинини МКБ – $(2,5 \times 10^3 - 2,5 \times 10^4)$ КУО/г, КПК – $(1,0 - 7,9) \times 10^3$ КУО/г; сирокочені з яловичини МКБ – $(3,2 \times 10^2 - 1,0 \times 10^6)$ КУО/г, КПК – $(1,0 \times 10^3 - 6,3 \times 10^4)$ КУО/г; сирокочені з курятини - МКБ – $(1,8 \times 10^3 - 1,25 \times 10^5)$ КУО/г, КПК – $(1,9 \times 10^3 - 1,6 \times 10^4)$ КУО/г [390].

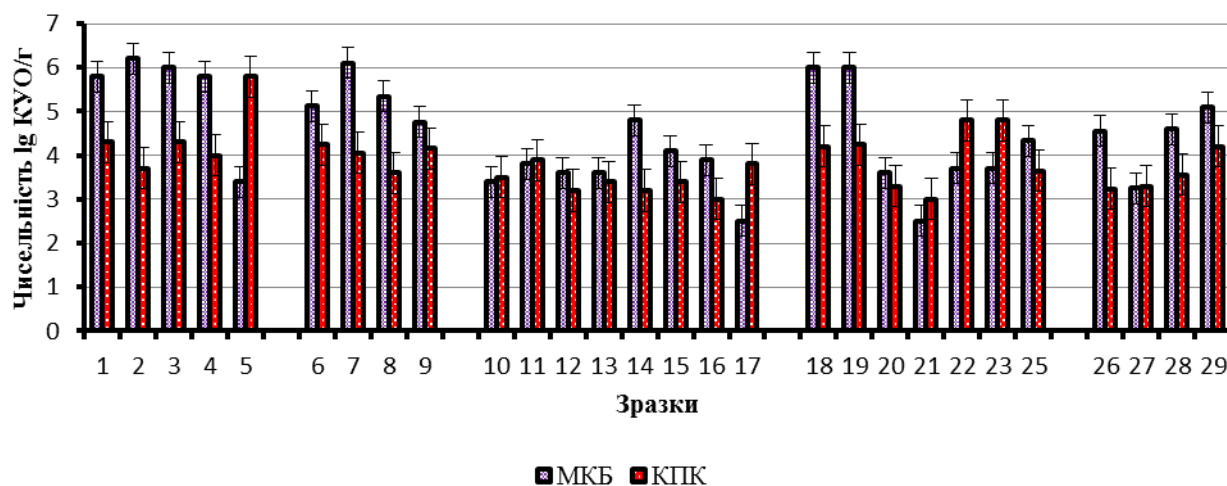


Рис.8.1. Кількісний та якісний склад мікробіоти ферментованих м'ясних продуктів непромислового виробництва (зразки 1-5 –сиров'ялені зі свинин; 6-9- сиров'ялені з яловичини; 10-17 сирокочені зі свинини; 18-25- сирокочені з яловичини; 26-29 – сирокочені з курятини).

Слід зазначити, що кожен продукт характеризувався власним співвідношенням між окремими групами мікроорганізмів (рис. 8.1). Кількісний

вміст МКБ, КПК, у досліджених сиркопчених виробках (зразки 10 - 29) був на два-три порядки нижче ніж у сиров'ялених продуктах (зразки 1-9). Ймовірно, це є результатом жорсткішої температурної обробки в процесі виробництва.

У двох зразках продукції було виявлено *Yersinia enterocolitica* збудника кишкового ієрсиніозу [391].

Для більшості сиров'ялених продуктів зі свинини було характерне кількісне переважання молочнокислих бактерій, за винятком зразку 5, в якому найчисельнішими були КПК. Для сиров'ялених виробів з яловичини (зразок 9), сиркопчених зі свинини (зразки 10-14) та сиркопчених з курятини (зразок 27) співвідношення МКБ до КПК складало приблизно 1:1, що може буде пов'язано з особливостями технології.

У результаті проведеного мікробіологічного дослідження було показано, що мікробіота ферментованих м'ясних продуктів, виготовлених за різної технології, була різноманітною, що можна пояснити особливостями технологічного процесу виготовлення цих продуктів. Найпоширенішими бактеріями у досліджених продуктах були представники родів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Micrococcus* та *Staphylococcus*.

Подібна тенденція і прослідковувалася за дослідження мікробіоти розсолів, які використовувалися для виготовлення м'ясних продуктів. Загальна чисельність мікробіоти у застосовуваних промислових розсолах була майже однаковою і коливалась в межах від $1,3 \cdot 10^6$ КУО/см³ до $5,6 \cdot 10^6$ КУО/см³ та розрізнялась за співвідношенням основних груп мікроорганізмів. Зокрема, у розсолах для плодоовочевих консервів переважали молочнокислі бактерії (35 – 43 %), тоді як у розсолах для балику зі свинини перевага була на боці кокових форм — мікрококів та стафілококів (33 – 36 %). Значну частку складали дріжджі (11 – 17) % та спороутворювальні бактерії — від 17 % до 24 %. Вміст санітарно-показової мікробіоти не перевищував 11 % [73, 81, 83].

Отримані нами данні щодо складу мікробіоти м'ясних виробів співпадають із літературними [328, 377, 411].

У результаті відбору було отримано 156 ізолятів мікроорганізмів, з яких відібрали 122 штами однорідних за морфологією, відповідно до виділених груп мікроорганізмів: 65 коків які належать до родини Micrococcaceae, а саме із сиров'яленої яловичини - 12, сиров'ялені зі свинини – 17, сирокочені зі свинини - 8; сирокочені з яловичини -14, сирокочені з курятини –14, та 57 лактобактерій (лактобактерії, лактококи). Інші 18 були каталазонегативними та 14 грамнегативні і, отже, виключені.

8.2 Диференціація ентерококів та стрептококів

Ідентифікацію культур проводили за комплексом культурально-морфологічних та фізіолого-біохімічних ознак відповідно до визначнику Бергі [388].

При виявленні колоній, схожих з колоніями стрептококів або ентерококів, досліджували морфологію клітин в мазках, пофарбованих за Грамом. З метою диференціації від морфологічно подібних мікрококів і стафілококів перевіряли каталазну і оксидазную активність бактерій з колоній. Для подальшої роботи відбирають колонії каталазо- і оксидазонегативні культури (табл. 8.1).

За морфологією – це сферичну форму, грампозитивні, розташовується у вигляді коротких ланцюжків з 2-3 коків. При вирощуванні стрептококів слід враховувати їх підвищену потребу в поживних речовинах.

З метою диференціації видів роду *Streptococcus* і *Enterococcus* дослідні культури розсівали в глюкозо-сироватковий бульйон з 40 % жовчі, 6,5 % натрію хлориду, з рН 9,6 та середовище для виявлення гідролізу ескуліну.

Вилучені коки були грампозитивними та каталазонегативними, росли за температури 45 °С, не утворювали H₂S, були стійкими до 40% жовчі і гідролізували ескуліну, та не гідролізували желатин та крохмаль але були деякі винятки. На середовищі з рН 9,6 росли всі ентерококи. У середовищі з 6,5 % NaCl росли ентерококи, а не росли стрептококи [338].

Беручи до уваги зазначені виключення, характер росту на поживних середовищах, можна з достатньою впевненістю за сукупністю ознак віднести вилучені ізоляти до стрептококів або ентерококи.

Таблиця 8.1

Диференціація родів *Enterococcus* та *Streptococcus*

Характеристика	Рід <i>Enterococcus</i>			Рід <i>Streptococcus</i>
	<i>E. durans</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>S. thermophilus</i>
Фарбування за Грамом	+	+	+	+
Утворення каталази	-	-	-	-
Ріст за 45 °C	+	+	+	+
Ріст за pH 9,6	+	+	+	-
Ріст в присутності 6,5% NaCl	+	+	+	-
Тип гемолізу	α . β	(β)	(α)	
Утворення H ₂ S	-	-	-	-
Гідроліз:	d	(+)	+	-
- ескулін	+	+	+	+
- аргініну	+	+	+	-
- желатину	-	-	-	-
- крохмалю	-	-	-	±
Лужна фосфатаза	-	-	-	-
Утворення CO ₂ з цитрату	-	-	-	-
Продуктування ацетоїну (Voges-Proskauer reaction), діацетил	+	+	+	+
Зброджування вуглеводів:				
- рамнози	-	D	-	-
- глюкози	+	+	+	+
- сахарози	-	+	d	+
- рафінози	-	-	-	±
- сорбіт	-	(+)	-	-
- маніта	(-)	+	(+)	-

Примітка: - негативний; + позитивний; ± можливо негативний та позитивний; (±) рідко зустрічається.

Так, 5 виділених штамів були віднесені до виду *E. faecium*, 4 ізолятів - до виду *E. durans*, 1 штамп - до виду *E. faecalis*. Видовий склад ентерококів, виділених із сиров'яленої яловичини, характеризувався великою

різноманітністю. З цих зразків виділено 3 штами *E. faecium*, та два штами *E. durans*. Із зразків сиров'яленої свинини було ізолювано 2 штами виду *E. durans*. Штам *E. faecalis* було вилучено із зрізків сиркопченої курятини, це свідчить про не дотримання технологічних режимів виробництва. Серед культур, ізолюваних із зразків сиркопченої свинини та сиркопченої яловичини були штами виду *E. faecium*.

На наступному етапі роботи були вивчені деякі чинники патогенності ентерококів. В результаті проведених досліджень нами було встановлено, що на фенотиповому рівні *Enterococcus spp.* не володіли гемолітичною і желатиназною активностями.

Відомо, що ентерококи найчастіше вилучають з шлунково-кишкового тракту людини і теплокровних тварин. Основні властивості мікроорганізмів є відсутність факторів вірулентності, відсутність стійкості до антибіотиків, здатність витримувати вплив високих температур, щоб пригнічувати ріст харчових патогенів та вижити в ШКТ.

При дослідженні антагоністичної активності ентерококів встановлено, що майже 80 % культур не володіли антагоністичною активністю до бактерій *E. coli*. Серед культур виду *E. faecium* та *E. durans* антагоністичною активністю до бактерій *E. coli* володіли по одному штаму. Тому штами *Enterococcus spp* було виключено із подальшої роботи.

8.3. Диференціація мікрококів та стафілококів

Після виділення чистої культури встановлюють вид за такими факторами як здатність ферментувати глюкозу за анаеробних умов, утворення плазмокоагулази, каталази, ДНК-ази, оксидази (табл. 8.2).

Одним із критеріїв попередньої оцінки біохімічного потенціалу стафілококів та мікрококів є визначення каталазної активності, що дасть змогу уникнути таких вад готового продукту, як прогірклість жирів та знебарвлення. Дослідження каталазної активності мікрококів дозволило відібрати штами які

розщеплюють перекис водню інтенсивніше на 6,9-12,5 % ніж коагулазопозитивний стафілокок *S. aureus* 209 [70].

Таблиця 8.2

Диференціація стафілококів від інших грампозитивних коків

Ознаки	Стафілококи	Мікрококи	Ентерококи	Стрептококи
Ферментація глюкози за анаеробних умов	+	-	+	+
Каталаза	+	+	-	-
ДНК-аза				
Оксидаза	-	+	-	-
Коагулаза	+	-	-	-

Для диференціації *Staphylococcus* від *Micrococcus* спочатку проводили вивчення характеру росту колоній на 10-відсотковому жовточно-сольовому і 5-відсотковому кров'яному агарі, а також проводили наступні тести: фарбування мазків з колоній за Грамом, визначали плазмокоагулазу, ферментація глюкози за анаеробних умов і утворення пігменту, чутливість до фуразолідону (диски 100 мкг); з фенолфталеїнфосфатом натрію; здатність гідролізу гліцерину у присутності еритроміцину (0,4 мг/л) (табл. 8.3) [395, 427].

Таблиця 8.3

Диференціація *Micrococcus* від *Staphylococcus*

Характеристика	<i>Micrococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>
Розмір клітин	0,5 - 3,5 мкм	0,5 - 1,5 мкм
Ферментація глюкози за анаеробних умов	-	+
Утворення пігменту на твердих середовищах	Від жовтого до рожевого	Від золотистого до білого
Фосфатазна активність	-	+
Чутливість до фуразолідону	-	+
Тест з еритроміцином	-	+
Тест з дисками "Діастаф"	Від 0 до 16 мм	від 17 до 40 мм
Фосфомоноестераза	+	-

Глюкозу ферментували лише 43 % штамів, які віднесено до роду стафілококів, але за здатності рости анаеробно, в цілому 58 % можуть бути класифіковані в межах роду *Staphylococcus*. Що стосується мікрококів, 68 % штамів росли за анаеробних умов, це нетипово для цієї групи мікроорганізмів. Аналогічні результати були отримані для мікрококів, ізольованих з м'ясних продуктів [360, 382, 412].

Показано, що 46 % ізолятів належність до мікрококів, оскільки вони не є чутливими до фуразолідону [360, 442].

Для стафілококів характерною ознакою є фосфатазна активність, яку було встановлено за якісною реакцією на середовищі з фенолфталеїнофосфатом натрію. Колір колоній стафілококів після обробки парами аміаку набував рожевого забарвлення, тоді як пігмент мікрококів залишався без змін. За цим тестом позитивною реакцією володіли 53 % вилучених ізолятів, що вказувало на належність до роду *Staphylococcus* [162].

Якісним показником, що також підтверджує наявність штамів роду *Staphylococcus* є здатність до гідролізу гліцерину в присутності еритроміцину. Стафілококи змінюють забарвлення поживного середовища з червоного на жовтий колір. Відсутність зміни кольору свідчить, що штами належать до роду *Micrococcus*. За цим тестом 56 % вилучених ізолятів мали позитивну реакцію.

Виділені культури стафілококів вважали чистими, у разі гомогенності мікропрепарату та за відсутності росту у зоні 17-34 мм навколо дисків з антибіотиком АЛ-87 [78], який має специфічну бактерицидну дію щодо стафілококів (рис. 8.2 та табл. 4) . Штами роду *Micrococcus* були стійкими до цього антибіотику і зон не утворювали [162].

У такий спосіб із 65 ізолятів, виділених із ФМП непромислового виробництва, 39 (60 %) було віднесено до роду *Staphylococcus* та 26 до роду *Micrococcus*.

*Staphylococcus ssp.**S. aureus*

Рис. 8.2. Визначення роду коків за експрес-методом діагностики стафілококів “Діастаф”.

Таблиця 8.4

Діагностичний тест розділення виділених кокових форм

Вид продукту	Кількість штамів	Зона затримки росту з дисками “Діастаф”, мм	
		Менше 14	Більше 14
Сиров'ялені зі свинини	12	6	6
Сиров'ялені з яловичини	17	7	10
Сирокопчені зі свинини	8	2	6
Сирокопчені з яловичини	14	4	10
Сирокопчені з курятини	14	7	7
Всі продукти	65	26	39

З 14 штамів, вилучених з сирокопченого продукту з курятини, не було жодного коагулазопозитивного (табл. 8.5). Найбільшу кількість коагулазопозитивних штамів було вилучено з сиров'ялених продуктів із свинини - 6 штамів (майже 50 %). Така закономірність свідчить про низьку якість сировини, з якої виготовлено продукцію, або про вторинну контамінацію через низький санітарно-гігієнічний рівень у виробника. Серед 17 штамів зі зразків сиров'ялених виробів із яловичини 4 були коагулазопозитивними.

Установлено, що 16 штамів коків є коагулазопозитивними, що свідчить про потенційну небезпеку і не уможливлює їхнє промислове використання.

Отже, для подальшої роботи було відібрано 16 штамів мікрококів та 20 штамів стафілококів.

8.4 Технологічні властивості виділених штамів

Один з найважливіших критеріїв відбору заквашувальних культур для ферментованих ковбас є стійкість штамів до значних концентрацій NaCl (6,5 та 10 %), оскільки технологією ферментованих ковбас передбачено соління м'ясної сировини (табл. 8.6).

Таблиця 8.5

Визначення коагулази у селекціонованих ізолятів

Вид продукту	Кількість штамів	коагулазопозитивні штами за термін інкубування		
		4 год	6 год	24 год
Сиров'ялені зі свинини	12	3	6	6
Сиров'ялені з яловичини	17	3	4	4
Сирокопчені зі свинини	8	2	3	3
Сирокопчені з яловичини	14	1	3	3
Сирокопчені з курятини	14	0	0	0
Всього	65	9	16	16
<i>S. aureus</i> ГІСК 049065		1	1	1
<i>K. varians</i> АТСС 9341		0	0	0

Для ідентифікованих штамів, а також колекційних штамів, було досліджено здатність до росту в діапазоні температур, вмісту NaCl та рівня кислотності середовища, що є характерним для м'ясної сировини та готових ФМП (рис. 8.3).

Майже всі колекційні культури росли у межах температур (10-40) °С; тоді як серед штамів, нещодавно виділених з ФМП, були такі, що не росли за температури нижче ніж 20 °С. Зі зростанням солоності середовища зменшувалась кількість штамів, здатних до росту. Так, якщо за концентрації хлориду натрію 4,0 % та 6,5 % зафіксовано ріст, відповідно, для 100 % та 96% штамів, то вже за 10 % вмісту NaCl – лише для 80 %.

Суттєвим фактором, який обмежував ріст стафілококів, був рН середовища 4,5 од. За такої кислотності були здатні рости лише 64 % досліджених штамів; причому більша кількість чутливих до низького рН штамів була серед колекційних культур.

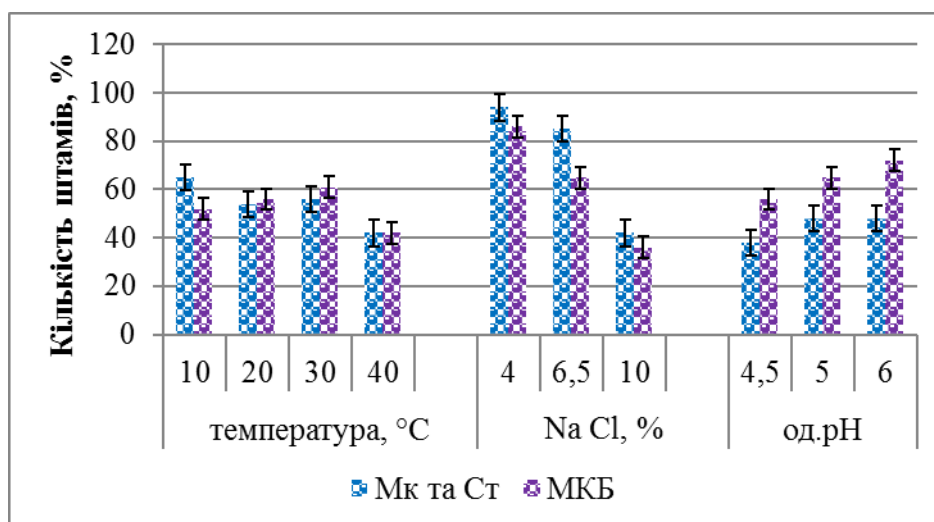


Рис. 8.3. Здатність до росту штамів стафілококів, та мікрококів та МКБ в умовах, характерних технологіям ФМП.

Отримані результати опубліковані у роботі [162].

Відібрані культури досліджували за наступними критеріями: за протеолітичною, ліполітичною активностями, антагоністичною активністю до *S. aureus* 209, *E. coli* O-55, здатністю до денітрифікації (табл. 8.6).

Із наведених у табл. 8.6 даних видно, що стафілококи характеризуються вищим спектром біохімічної активності, ніж мікрококи [31].

МКБ були активнішими антагоністами щодо, а саме 71 % досліджуваних культу пригнічували ріст *E. coli* O-55, та 45 % - *S. aureus* 209. Для проаналізованих СТ та МК було характерне співіснування з тест-культурою *S. aureus* 209, а *E. coli* O-55 було виявлено антагонізм у 17 % та 14 % штамів відповідно.

Таблиця 8.6

Розподіл вилучених штамів за біохімічними активностями

Біохімічна активність	Морфологічні групи бактерій					
	СТ		МК		МКБ	
	Кількість	%	Кількість	%	Кількість	%
Денітрифікуюча	28	58	14	46	15	43
Протеолітична	25	52	8	26	30	86
Ліполітична	21	44	5	17	8	23
Антагоністична						
<i>S. aureus</i> 209	0	100	0	100	16	45
<i>E.coli</i> O-55,	8	17	2	14	25	71

Серед 48 штамів СТ, 14 штамів МК, 35 штамів МКБ лише 28, 14 та 15 відповідно були здатні до відновлення нітратів/нітритів, решта – нездатні, і тому були виключені нами з подальших досліджень як неперспективні для застосування у виробництві ферментованих м'ясних продуктів.

8.5 Ідентифікація виділених стафілококів та мікрококів

Наступним етапом відбору стафілококів та мікрококів було ретельне вивчення їх біохімічних властивостей та вплив інгібіторів росту на функціонування відібраних культур, що, зокрема, дало підставу для визначення їх таксономічного положення.

В результаті дослідження морфологічних, культуральних, фізико-хімічних та біохімічних властивостей 31 кокових ізолятів було встановлено, що більшу

частину вилучених мікроорганізмів (75%) можна віднести до *Staphylococcus*, 25% – до *Micrococcus*. Класифікацію цих штамів проводили за показниками, які представлені на рис.8.4. Виділені штами розподілили на 6 основних груп, 4 з них розділені на підгрупи.

Група 1. Загальні ознаки: не редукують нітрити та не утворюють фосфотазу, каталазу, ферментують глюкозу, лактозу, манозу і галактозу. Підгрупа 1 Б. Варіабельні ознаки: утворюють каталазу, гідролізують крохмаль, розріджують желатин, утворюють аміак із аргініну.

Група 2. Загальні ознаки: редукують нітрати, каталазонегативні. Не утворюють пігмент, фосфотазу, ферментують глюкозу, лактозу, манозу, галактозу. Не гідролізують крохмаль, не розріджують желатин, утворюють аміак із аргініну.

Група 3. Загальні ознаки: редукують нітрати, каталазонегативні, утворюють пігмент, Підгрупа 3А. Утворюють діацетил, ферментують глюкозу, лактозу та галактозу. Варіабельні ознаки: утворення фосфотаз. Підгрупа 3 Б. Не утворюють фосфотазу, діацетил, аміак із аргініну, гідролізують крохмаль, розріджують желатин.

Група 4. Загальні ознаки: редукують нітрати, каталазопозитивні, утворюють пігмент. Не утворюють діацетил, фосфотазу, не гідролізують крохмаль і желатин. Варіабельні ознаки: утворення аміаку з аргініну, ферментація вуглеводів, видова належність за «Діастафом».

Група 5. Загальні ознаки: редукують нітрати, каталазопозитивні, утворюють пігмент. Не утворюють діацетил, фосфотазу, гідролізують крохмаль і не розріджує желатин. Варіабельні ознаки: утворення аміаку з аргініну, ферментація вуглеводів, видова належність за «Діастафом».

Група 6. Загальні ознаки: редукують нітрати, каталазопозитивні, утворюють пігмент. Не утворюють діацетил, фосфотазу, гідролізують крохмаль і желатин. Варіабельні ознаки: утворення аміаку з аргініну, ферментація вуглеводів, видова належність за «Діастафом».

Вони є грампозитивними, плазмокоагулазопозитивними та каталазонегативними. Інші ознаки були варіабельними відповідно до утворених підгруп: пігментоутворення, відновлення нітритів, утворення діацетилу, фосфатазна активність, ферментація вуглеводів (див. рис 8.4).

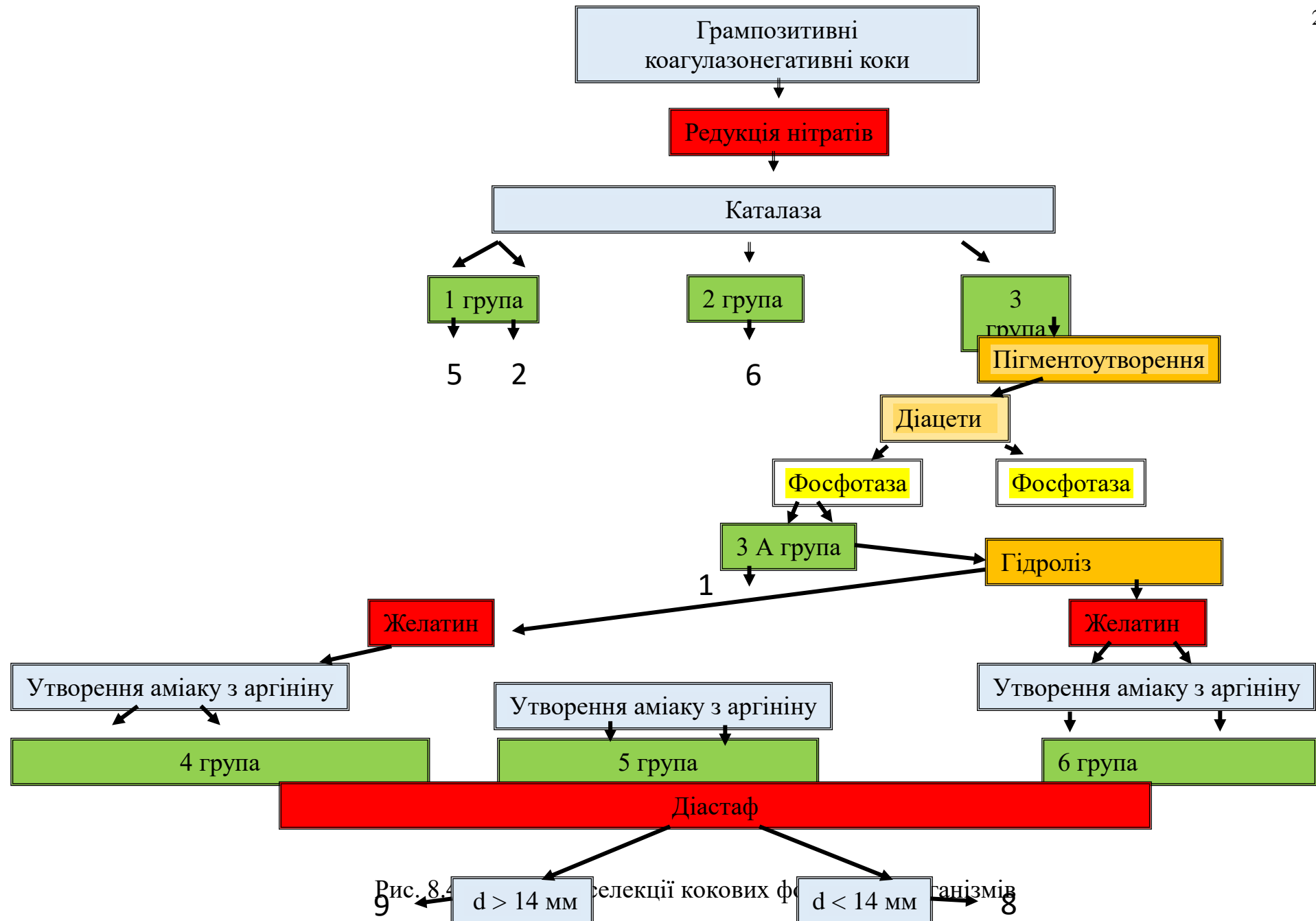
Із усіх представлених груп найбільш перспективними для залучення до складу бактеріальних препаратів є штами, які редукують нітрати, ферментують вуглеводи, здатні до протеолізу, вирізняються найвищою активністю та відповідають ознакам родини *Micrococcaceae*, які зазначено у визначнику Бергі.

Було встановлено, що вилучені мікрококи є каталазопозитивними та фосфатазонегативними аеробними та мікроаерофільними коками. Інші ознаки були варіабельними відповідно утворених груп: пігмент, відновлення нітратів, утворення аміаку з аргініну та діацетилу, гідроліз крохмалю та твіну, розрідження желатини, ферментація вуглеводів, наявність росту в середовищі з неорганічним азотом та на агарі Сімонса [162].

Детальну характеристику властивостей виділених мікрококів наведено в Додатку А. 4.

З наведених таблиць 8.7-8.8 та визначника Бергі можна зробити висновки, що селекціоновані культури є грампозитивними аеробними та мікроаерофільними коками, зокрема, 5200-5205 до виду *M. varians*, 5400-5405 – до виду *M. roseus*, 5500-5502 до виду *M. luteus* 5600-5601 – до виду *Micrococcus nishinomiyaensis*, відповідно, а *Micrococcus nishinomiyaensis* до *Dermaococcus nishinomiyaensis* [459]. Мікрофотографії *M. varians*, *M. roseus* наведено на рис. 8.5.

Тест на наявність коагулази є необхідним критерієм попередньої оцінки ступеня безпеки стафілококів, було перевірено 89 штамів стафілококів (табл. 8.5). Встановлено, що серед досліджених культур 16 штамів (17,9 %) – коагулазопозитивні [70].



У результаті проведеної роботи вдалось визначити видову належність стафілококів. Серед коагулазонегативних стафілококів, було ідентифіковано до виду 14 штамів, серед них: *S. saprophyticus* – 3, *S. simulans* – 3, *S. hominis* – 2, *S. epidermis* – 1, *S. lentus* – 2, *S. carnosus* – 2, *S. xylosus* – 2.

Детальну характеристику властивостей виділених мікрококів наведено в Додатку А. 5.

Для інших штамів не вдалося визначити видову належність. Такі варіанти було відкинуто. Однак для промислового застосування цих штамів необхідно довести їхню повну безпечність. Мікрофотографії *S. simulans* 5301 наведено на рис. 8.5.

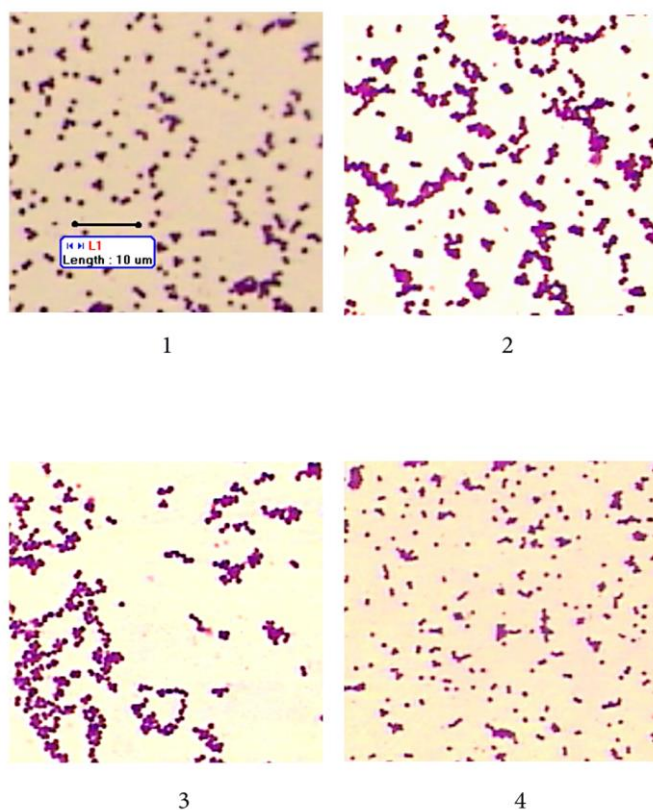


Рис. 8.5 Мікрофотографії
1, 2 – *M. varians* 5202, 3 - *M. roseus* 5401, 4 - *S. simulans* 5301,
(світловий мікроскоп,
збільшення 10x100)

Переважали ізоляти роду *Staphylococcus* над родами *Micrococcus* або *Cosmigena* при вивченні характеристик мікробіоти м'ясних продуктів. Подібне також було відмічено і Delarras і ін [361]. А також стафілококи адаптуються до більш низьких значень окисно-відновного потенціалу, яке відбувається під час висушування продукту [439-440].

Таблиця 8.7

Фізіолого-біохімічні властивості селекціонованих штамів

№ п/ п	№ штаму в колекції	Пігмент	Ріст на “Діастаф”, мм	УА*	ГК	РЖ	АС	ФА	ЕГ	ВН	КА	ЛФ	Ріст з NaCl, %		ДЦ
													4	6,5	
1.	12Р	Білий	d = 32	-	+	+	-	-	+	+	±	-	+	+	+
3.	5204	Молочний	Відсутня зона	-	+	+	+	+	-	±	+	-	+	-	+
4.	5403	Білий	Відсутня зона	-	-	-	-	+	-	±	+	-	+	+	+
5.	2В-2	Молочний	d = 16	±	-	+	+	-	+	+	+	±	+	+	+
6.	5301	Світло- жовтий	d = 25	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
9.	5304	Молочний	d = 22	±	-	-	-	-	+	+	+	-	+	±	+
10.	5600	Жовтий	Відсутня зона	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+
11.	5601	Світло- жовтий	Відсутня зона	-	+	+	-	+	-	±	+	-	+	+	+

Примітка. *Утворення аміаку з аргініну – УА, Гідроліз крохмалю – ГК, розрідження желатини – РЖ, ріст на агарі Сімонса – АС, Відновлення нітрату – ВН, Каталазна активність – КА, Лужна фосфатаза – ЛФ, ріст на фуразолідоновому агарі – ФА, гідроліз гліцерину у присутності еритроміцину – ЕГ, Наявність діацетила (лужна проба) – ДЦ.

Таблиця. 8.8

Цукролітична активність кокових штамів по відношенню до різних вуглеводів

Зброджування вуглеводів:	Штами							
	12Р	5204	5403	2В-2	5301	5304	5600	5601
ксилоза	-	-	-	-	-	-	-	-
арабиноза	-	-	-	-	-	-	-	-
рафіноза	-	-	-	-	-	-	-	-
сахароза	-	-	-	+	+	±	-	-
мальтоза	-	-	-	+	+	+	-	-
маніт	-	-	-	-	-	±	-	-
маноза	-	-	-	-	-	-	-	-
лактоза	-	-	-	+	+	±	-	-
галактоза	-	±	-	+	-	-	-	-
фруктоза	+	+	-	+	+	+	±	-
інулін	-	-	-	-	-	-	-	-
інозит	-	-	-	-	-	±	-	-
декстрин	-	-	-	±	-	-	-	-
гліцерин	-	-	-	-	-	-	-	-
рамноза	-	-	-	-	-	-	-	-
сорбіт	-	-	-	-	-	-	-	-
глюкоза	±	±	-	+	+	+	±	-
мелібіоза	-	-	-	-	-	-	-	-

8.6 Ідентифікація лактобактерій

При виробництві ферментованих ковбас застосовують різні молочнокислі палички, які під час визрівання продукту займають домінуюче положення і надають продуктам приємного запаху та кислуватого присмаку. За літературними даними [205, 344], молочнокислі палички добре розвиваються у солоному м'ясі із додаванням цукру.

Із відібраних 40 паличкоподібних культур після дослідження на солестійкість для подальшої роботи було відібрано 23 штами. Отримані варіанти класифікували за показниками, які представлені на рис. 8.6. Виділені штами розподілили на 6 основних груп [88].

Група 1. Загальні ознаки – молокозсідальна активність більше 48 год.

Група 2. Загальні ознаки – молокозсідальна активність до 48 год. Границя кислотоутворення до 150 °Т.

Група 3. Загальні ознаки – молокозсідальна активність до 48 год. Границя кислотоутворення більше 150 °Т, не володіють протеолітичною активністю.

Група 4. Загальні ознаки – молокозсідальна активність до 48 год. Границя кислотоутворення більше 150 °Т, володіють протеолітичною активністю, не редукують нітрати.

Група 5. Загальні ознаки – молокозсідальна активність до 48 год. Границя кислотоутворення більше 150 °Т, володіють протеолітичною активністю, редукують нітрати, не ферментують рамнозу.

Група 6. Загальні ознаки – молокозсідальна активність до 48 год. Границя кислотоутворення більше 150 °Т, володіють протеолітичною активністю, редукують нітрати, рамнозу.

Із відібраних 29 культур після дослідження на солестійкість для наступної роботи було відібрано 16 молочнокислих штамів. Отримані варіанти класифікували за показниками, які представлені в табл. 8.9-8.10

З таблиці 8.9 видно, що всі вилучені молочнокислі коки та палички були грампозитивними та каталазонегативними. Мікроорганізми зброджували глюкозу за двома типами бродіння, як гомоферментативним так і гетероферментативним типом, оскільки вони утворювали газ із глюкози. Всім дослідним штамам була властива ароматоутворююча та нітритредукуюча активності та солестійкість до 6,5% NaCl. 25% вилучених штамів розріджують желатину і тільки 12,5% утворюють аміак із аргініну. У досліджених штамів термін сквашування стерилізованого молока коливався від 22 до 48 годин.

Із всіх вилучених ізолятів найпридатнішими є штами, які відновлюють нітрати, ферментують вуглеводи, володіють протеолітичними властивостями та розрізняються між собою високою активністю.

Відомо, що розвиток багатьох мікроорганізмів за визрівання ковбас у присутності вуглеводів, зокрема глюкози, проходить активніше. При цьому

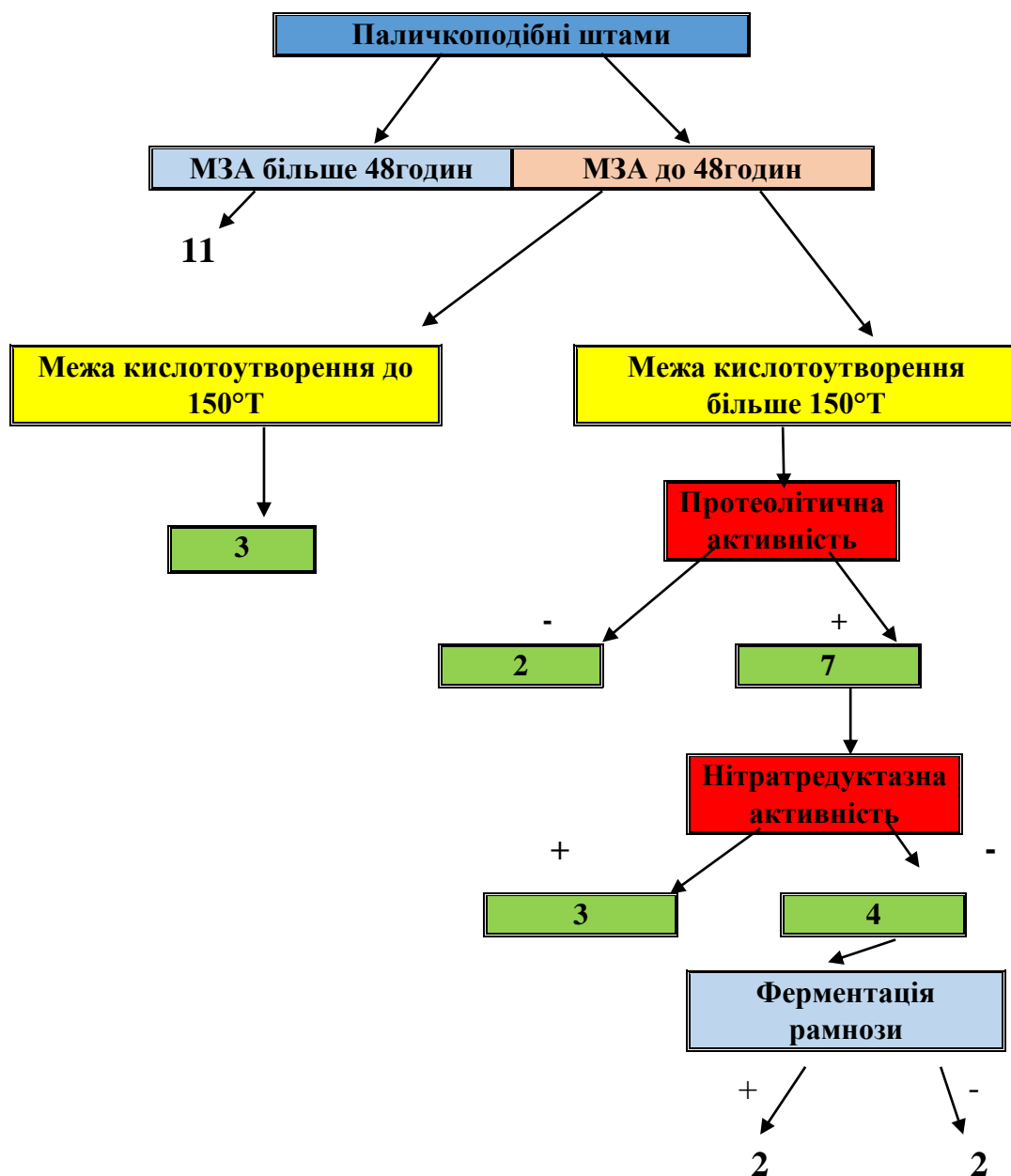


Рис. 8.2. Алгоритм селекції паличкоподібних штамів.

основними продуктами молочнокислого бродіння є органічні кислоти, які впливають на формування кольору, смаку та аромату ковбас. Ферментація вуглеводів сприяє зниженню рН та окисно-відновному потенціалу. Тому важливо дослідження цукролітичної активності молочнокислих бактерій по відношенню до різних вуглеводів, що також впливає на їхню ідентифікацію (табл. 8.10). Всі досліджені штами зброджували глюкозу, фруктозу, галактозу, манозу, а інші вуглеводи - вибірково.

Таблиця 8.9

Фізіолого-біохімічні властивості відібраних штамів

№ п/ п	№ штаму в колекції	МЗА, год	ГК*, °Т	Консис- тенція	УГ	ВН	КА	УА	РЖ	Ріст з NaCl, %		ДЦ
										4	6,5	
1	3305	22	204	Однорідна, не слизова	-	+	-	-	-	+	±	+
2	24Р-2	48	84	Однорідна не слизова	-	+	-	-	-	+	±	+
3	3304	25,5	230	Однорідна, не слизова	-	+	-	-	-	+	+	+
4	3У-1	23	216	Однорідна слизова	-	+	-	-	-	+	+	+
5	3205	23	210	Однорідна слизова	-	+	-	-	-	+	±	+
6	3001	33	210	Крупка, сироватка	-	+	-	±	-	+	+	+
7	4000	26,5	214	Однорідна рідка, смак солодкий	+	±	-	-	+	±	±	+
8	В-Р-48-1	23	166	Однорідна слизова	+	+	-	-	+	+	+	+
9	7У-3	18	196	Крупка, сироватка	-	-	-	-	-	+	+	+
10	11-У	21	201	Крупка, сироватка	-	+	-	-	-	+	+	+
11	58-33	48	220	Однорідна рідка	-	-	-	-	-	+	+	+
12	1031	14	190	Однорідна рідка	-	-	-	-	-	+	+	+
13	3321	18	200	Однорідна рідка	-	-	-	-	-	+	+	±
14	3322	17,5	190	Однорідна рідка,	-	-	-	-	-	+	+	+
15	3201	18	200	Однорідна рідка	-	+	-	-	-	+	+	±
16	3245	18	210	Однорідна рідка	-	+	-	-	-	+	+	+
17	3032	26	200	Однорідна рідка	-	+	-	-	-	+	+	+

Примітка.* Гранична кислотність – ГК, відновлення нітрату – ВН, утворення аміаку з аргініну – УА, розрідження желатини – РЖ, каталазна активність – КА, Наявність диацетилу (лузна проба) – ДЦ, утворення газу із глюкози – УГ.

Таблиця 8.10

Цукролітична активність паличкоподібних штамів по відношенню до різних вуглеводів

Зброджування вуглеводів:	Штами																	
	1У-2	3У-1	3205	3001	5У-3	7У-3	4000	330 5	В-Р- 48-1	24Р- 2	11-У	5833	1031	3321	3322	3201	3245	3032
Ксилоза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±
арабиноза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	±	-
рафіноза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	±
сахароза	-	-	-	+	-	-	±	±	±	+	+	-	+	±	±	+	+	±
мальтоза	-	-	-	+	±	-	+	±	-	+	+	±	-	-	±	+	-	-
маніт	±	-	±	-	+	+	±	+	+	-	±	+	+	±	±	+	+	±
маноза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+
лактоза	+	±	+	+	+	-	+	-	+	±	+	+	-	+	+	+	+	+
галактоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
фруктоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
інулін	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-
інозит	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
декстрин	±	±	±	-	±	±	-	-	±	±	-	-	±	-	-	-	±	-
гліцерин	-	±	±	-	±	±	±	-	±	-	-	±	-	-	-	-	-	±
рамноза	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
сорбіт	+	-	±	±	-	±	-	+	-	-	-	-	+	±	-	+	+	-
глюкоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
мелібіоза	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	±	±

Паличкоподібні культури після ідентифікації вищевказаними методами було віднесено до двох родів *Lactobacillus* та *Propionibacterium*. Видову належність було визначено у штамів 58-33, 1031, 1У-2 та 13305 - до *L. rhamnosus* 3321, 3322 до *L. casei*; 3205, 5У-3 – до *L. coryniformis* ssp. *coryniformis*, 3340 - до *L. casei* ssp. *tolerans*, 3201, 3245, 30-32 – до *L. plantarum* і 2 штами: 7У-2 та В-Р-48-1 до виду *P. acnes*, 4000 до виду *L. sakei*, 3001 до виду *L. curvatus*

У результаті проведеної роботи було відібрано 17 найактивніших паличкоподібних штамів із 40, що мали характерні ознаки для роду *Lactobacillus*. Вони були мікроаерофільними, грампозитивними, каталазонегативними, нерухливими паличками, не здатними до утворення спор. Зброджували вуглеводи без утворення вуглекислого газу, хоча мали відмінності за спектром зброджуваних вуглеводів. Всі досліджені штами зброджували глюкозу, фруктозу, галактозу, манозу, а інші вуглеводи – вибірково. Фізіолого-біохімічні ознаки вилучених лактобактерій наведені в додатку А. 3.

Отже, в результаті селекційної роботи з 29 видів м'ясних виробів було вилучено та ідентифіковано 30 штамів кокової форми, які належали до видів *S. saprophyticus*, *S. simulans*, *S. hominis*, *S. epidermis*, *S. lentus*, *S. carnosus*, *S. xylosus*, *M. varians*, *M. roseus*, *M. Luteus*, *M. nishinomiyaensis*, 16 штамів молочнокислих паличок видів *L. casei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. sakei* та *L. curvatus*, *L. coryniformis* ssp. *coryniformis*, *L. casei* ssp. *tolerans* та 2 штами *P. acnes*, з яких 11 задепоновано у Національній депозитарії промислових мікроорганізмів ІМВ НАНУ (Додаток Б. 10 – Б.21.)

Отримані результати опубліковані у роботі [46, 68, 150, 238].

8.7. Визначення безпечності відібраних мікрококів та стафілококів

Необхідною умовою промислового застосування штамів мікроорганізмів є їхня санітарно-епідемічна безпека (відсутність серед мікробних метаболітів будь-яких контамінантів, які можуть вплинути на здоров'я людини).

Бактерії роду *Lactobacillus* у США вважаються GRAS мікроорганізмами (Generally Regarded As Safe – загально визнані як безпечні), а у країнах ЄС мають статус QPS (qualified presumption of safety – ті, що мають презумпцію безпеки).

Останніми роками встановлено, що коагулазонегативні стафілококи – невід'ємна складова у процесах традиційного виробництва ферментованих м'ясних та рибних продуктів, твердих сирів. Так, італійським законодавством дозволяється застосування *S. xylosus*, *S. carnosus*, *S. simulans* у якості стартерних культур під час виробництва ФМП [350].

У ІМВ НАН України було проведене перевірку патогенних властивостей штаму *S. simulans* 5301, *S. carnosus* 5304, *M. roseus* 5400 на тваринних моделях (білих мишах) (наведено у Додатку В. 2- В. 4). Відібрані штами належать до 4-го класу, тобто до “мало небезпечних, практично без алергенної та загальнотоксичної дії”.

Штам *M. varians* 5201 було віднесено до 3-го класу, який об'єднує непатогенні, “помірно небезпечні з сильною загальнотоксичною чи алергічною дією”. Такі ознаки є неприпустимими для харчових продуктів. Тому цей штам, незважаючи на високий рівень активності, було вилючено з роботи. Результати, що підтверджують безпеку штамів наведено в Додатку В. 1.

8.8. Дослідження нітритредукувальної активності молочнокислих мікроорганізмів

Із всіх вилучених ізолятів найпридатнішими є штами, які відновлюють нітрати. Нітрити і нітрати здавна використовують у виробництві ферментованих м'ясних продуктів: з одного боку, вони позитивно впливають на колір, смак і аромат, стійкість за зберігання, з іншого — у кислому середовищі можуть бути попередниками утворення канцерогенних сполук, нітрозамінів. Відсутність

речовин, які функціонально здатні замінити використання останніх, спонукає до пошуку культур з високою нітритредуктазною активністю.

Досліджували динаміку розкладання нітриту натрію *L. casei* 3321; *L. rhamnosus* 3304; *L. plantarum* 3201, *L. fermentum*, *L. paracasei* 3800 та *Lactococcus lactis* 3400, та композиціями на їх основі штамами. Для цього у середовище МРС додавали 200 мг/дм³ NaNO₂. У це середовище 5 вносили 5 % лактобактерій і культивували за температури (35±2) °С впродовж 12 діб. Контролем було середовище без мікроорганізмів. Слід зауважити, що концентрація нітриту вдвічі перевищувала концентрацію за рецептурою на ферментовані ковбаси [378]. Зміна концентрації нітриту під час культивування чистих МКБ показана на рис. 8.7. У контролі вміст нітритів залишався постійним упродовж всього експерименту (крива К). На 12 добу культивування дослідні культури зменшували вміст нітриту від 50 % до 76 % від початкового вмісту нітриту. Найвища нітритредуквальна активність притаманна штамам *L. plantarum* 3201 і *L. paracasei* 3800, які знижували вміст нітриту на 76 % та 74,5% відповідно і на кінець культивування залишкова концентрація була на рівні 50 мг/дм³ [93].

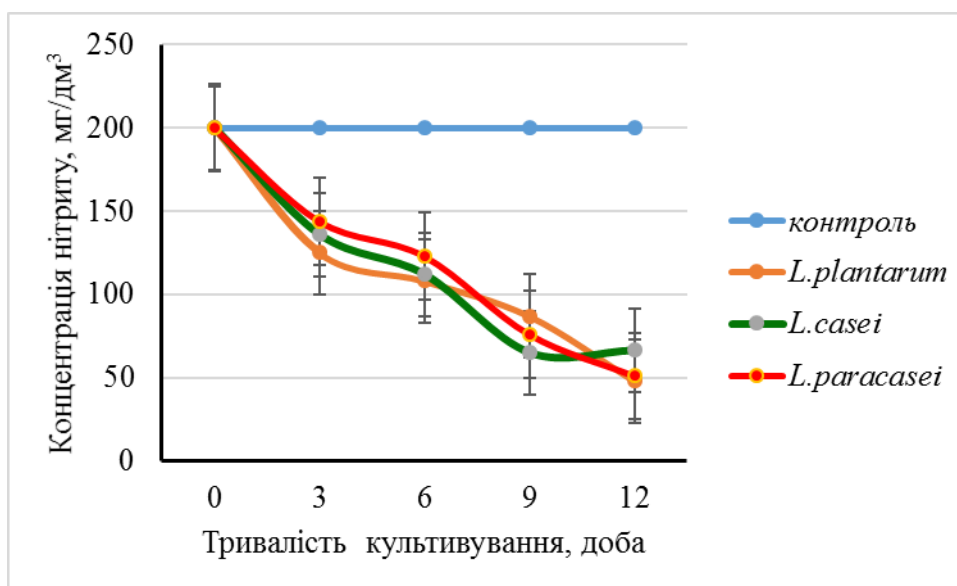


Рис. 8.6. Динаміка зміни концентрації нітриту натрію окремими культурами МКБ

На кінець культивування штам *L. casei* 3321 знизив вміст нітриту з 200 мг/дм³ до 66,5 мг/дм³. Цю функцію можна істотно підвищити, поєднуючи штами з різним рівнем активності відновлення нітритів, здатними забезпечити

синергічний ефект. Для цього було створено 3 різні варіанти двокомпонентних композицій штамів і досліджено їх нітритредукувальну активність. Співвідношенням між окремими штамами склало 1:1. Склад композицій такий: 1. - *L. plantarum* 3201 + *L. casei* 3321. 2 - *L. casei* 3321 + *L. paracasei* 3800, 3- *L. plantarum* 3201 + *L. paracasei* 3800. Зміна концентрації нітриту під час культивування композицій МКБ представлено на рис.8.7 [93].

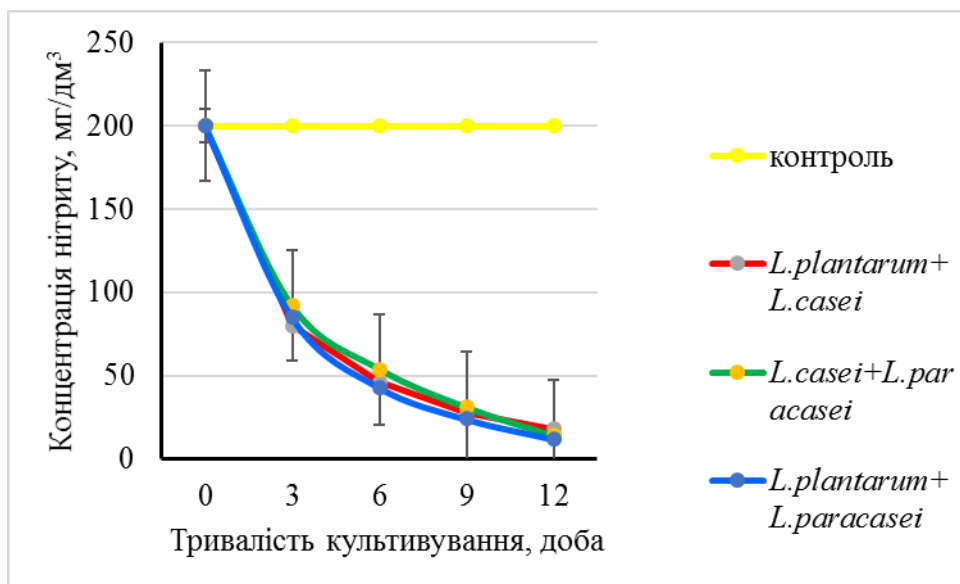


Рис. 8.7 Зміна концентрації нітриту під час культивування композицій

Встановлено, що всі композиції активніше знижувати вміст нітриту порівняно з монокультурами. Композиції знижували вміст нітриту відповідно на 91 %, 93 % і 94 % від початкового. На кінець ферментації залишковий вміст нітриту у всіх варіантах знаходився в межах від 12 до 28 мг/дм³. Аналіз динаміки зміни концентрації показав, що у перші три доби культивування концентрація нітриту стрімко знижувалася майже однаково для всіх композицій — зі 105 мг/дм³ до 82 мг/дм³. Надалі концентрація нітриту зменшувалася, але повільніше. Найактивнішою за цим параметром була композиція 3. У результаті встановлено, що композиції молочнокислих бактерій активніше відновлювали нітрит порівняно з монокультурами. Це можна пояснити тим, що композиції молочнокислих мікроорганізмів володіють сильніший синергетичним ефектом. Отримані дані узгоджувались із даними, наведеними у [423]. Подібні результати були отримані при дослідженні нітритредуктазної активності коагулазонегативних стафілококів [425].

Отже, молочнокислі бактерії активно розвиваються у середовищі МРС з додаванням нітритної солі концентрацією, яка вдвічі перевищує концентрацію за рецептурою на ферментовані ковбаси. Композиції штамів молочнокислих мікроорганізмів більш інтенсивніше знижують рівень нітриту, ніж монокультури.

8.9 Дослідження впливу ефірних олій на технологічно важливу мікробіоту

Пошук технічно нескладного, дешевого і водночас ефективного способу запобігання мікробному псуванню та збільшення термінів зберігання м'ясних продуктів залишається актуальним. Велике значення мають розробки з добору та впровадження у виробництво м'ясних виробів добавок природного походження на основі пряно-ароматичної сировини. Тому було доцільним провести дослідження, спрямовані на вивчення впливу ефірних олій на промислові можливості комплексного застосування вітчизняних стартових культур і ефірних олій.

Було проведено дослідження з визначення впливу різної концентрації ефірних олій полину, шавлії, коріандру та васильків на штами *S. carnosus* 5400, *S. simulans* 5300, *L. casei* 3321, *L. paracasei sspb paracasei* 3800, *L. plantarum* 3201, *L. rhamnosus* 3308, *L. rhamnosus* 3305, які залучено до колекції промислових мікроорганізмів Інституту продовольчих ресурсів НААН. Результати досліджень наведені у таблиці 8.11 [96].

Показано, що дослідні ефірні олії виявляють до різних груп мікроорганізмів різну антимікробну активність, причому вона найвища до *S. carnosus* 5400, *S. simulans* 5300, тоді як штами *L. paracasei* 3800, *L. plantarum* 3201 були стійкішими. Олія полину у співвідношенні з гліцерином 1:1 та 1:2 вирізнялася найнижчою антагоністичною активністю, найбільшу бактерицидну дію спостерігали для васильків з гліцерином у співвідношенні 1:2. Активне пригнічення росту спостерігали для штаму *S. carnosus* 5304 під впливом олії васильків у варіанті ВА, зона затримки росту сягала 35 мм. Зменшення кількості ефірної олії удвічі призводить до зменшення зони затримки росту

майже втричі (варіант ВБ). Всі штами *L. rhamnosus* були майже нечутливими до всіх ефірних олій, за винятком штаму *L. rhamnosus* 3308 щодо полину (варіант ПА) та шавлії (варіант ША). Зона затримки росту цих штамів була в межах 8–15 мм, а в окремих випадках — відсутня. Ефірна олія полину (КА) та васильків (ВА) пригнічувала ріст штаму *L. paracasei* 3800 [96].

Таблиця 8.11

Зони затримки росту мікроорганізмів, мм

Ефірна олія Зразок	Полин:гліцерин		Шавлія: гліцерин		Коріандр гліцерин		Васильки: гліцерин	
	ПА 1:1	ПБ 1:2	ША 1:1	ШБ 1:2	КА 1:1	КБ 1:2	ВА 1:1	ВБ 1:2
<i>S. carnosus</i> 5400	24±2,5	13±1,34	20±2,4	25±2,56	16±1,65	20±2,1	35±3,2	10±1,2
<i>S. simulans</i> 5300	13±1,1	0	14±1,34	0	8±1,1	22±2,2	10±1,1	20±2,06
<i>L. casei</i> 3321	0	8±0,6	20±2,6	9±0,5	15±2,1	10±0,9	5±0,4	11±1,4
<i>L. paracasei</i> 3800	8±0,8	10±0,6	0	8±0,6	18±1,98	0	17±1,1	0
<i>L. plantarum</i> 3201	10±0,5	0	10±1,34	0	12±1,1	10±1,9	8±0,8	7±0,9
<i>L. rhamnosus</i> 3308	15±1,14	0	12±1,56	0	0	10±1,4	12±1,1	8±0,6
<i>L. rhamnosus</i> 3305	20±1,85	0	16±1,13	0	10±15	10±1,8	0	13±1,3

Установлено, що досліджені ефірні олії виявляють до різних груп мікроорганізмів різну антимікробну активність, причому вона вища до *S. carnosus* 5304, *S. simulans* 5100. Найменший вплив спостерігали до штамів *L. paracasei* 3800, *L. plantarum* 3201.

Найактивніший штам лактобактерій, який функціонує в м'ясній сировині захищено патентом на корисну модель [166] (Додаток Е. 1).

Висновки до розділу 8

1. Досліджено мікробіоту вітчизняних м'ясних сиров'ялених та сирокочених продуктів вироблених за традиційною технологією, виявлено домінування у її складі таких груп мікроорганізмів: у мікробіоті сиров'яленої яловичини превалювали такі групи мікроорганізмів: МКБ – $(5,01 \times 10^4 - 1,28 \times 10^6)$ КУО/г, КПК – $(3,98 \times 10^3 - 1,78 \times 10^4)$ КУО/г; сиров'ялені зі свинини МКБ – $(2,5 \times 10^3 - 1,6 \times 10^6)$ КУО/г, КПК – $(5,0 \times 10^3 - 6,3 \times 10^5)$ КУО/г; сирокочені зі свинини МКБ – $(2,5 \times 10^3 - 2,5 \times 10^4)$ КУО/г, КПК – $(1,0 - 7,9) \times 10^3$ КУО/г; сирокочені з яловичини МКБ – $(3,2 \times 10^2 - 1,0 \times 10^6)$ КУО/г, КПК – $(1,0 \times 10^3 - 6,3 \times 10^4)$ КУО/г; сирокочені з курятини – МКБ – $(1,8 \times 10^3 - 1,25 \times 10^5)$ КУО/г, КПК – $(1,9 \times 10^3 - 1,6 \times 10^4)$ КУО/г.

2. У ІМВ НАН України було проведено перевірку патогенних властивостей штаму *S. simulans* 5301, *S. carnosus* 5304, *M. roseus* 5400 та *M. varians* 5201 на тваринних моделях (білих мишах). Відібрані штами належать до 4-го класу, тобто до “мало не безпечних, практично без алергенної та загальнотоксичної дії”. Штам *M. varians* 5201 було віднесено до 3-го класу, який об'єднує непатогенні, “помірно небезпечні з сильною загальнотоксичною чи алергічною дією”.

3. Описано послідовні етапи вилучення мікроорганізмів із м'ясних продуктів. У результаті цілеспрямованої селекції за такими властивостями як солестійкість, нітритредукувальна, каталазна та протеолітична активності, популяційна стабільність відібрано до колекції промислових штамів ІПР та ідентифіковано 35 високопродуктивних культур: *L. rhamnosus*, *L. coryniformis* ssp. *coryniformis*, *L. casei* ssp. *tolerans*, *Propionibacterium acnes*, *M. varians*, *M. roseus*, *M. nishinomiyaensis*, *Staphylococcus simulans*, *S. saprophyticus*, *S. carnosus*, з яких 7 задепоновано у Національному депозитарії промислових мікроорганізмів ІМВ НАНУ.

РОЗДІЛ 9. СКЛАДАННЯ ЗАКВАШУВАЛЬНИХ КОМПОЗИЦІЙ ДЛЯ ФЕРМЕНТАЦІЇ М'ЯСНОЇ СИРОВИНИ

9.1 Складання заквашувальних композицій

Було проведено цілеспрямовану селекцію біохімічно-активних штамів мікроорганізмів, перспективних для використання у виробництві ферментованих м'ясних продуктів. Ці штами було використано для створення бінарних комбінацій, а потім для заквашувальних композицій.

Відомо, що для підвищення технологічної ефективності та розширення спектру бажаних властивостей бактеріальних препаратів, їх створюють з використанням симбіотичних асоціацій штамів, що доповнюють ферментативний потенціал один одного [335].

Симбіози молочнокислих бактерій з мікрококами або коагулазонегативними стафілококами відіграють важливу роль у процесі ферментування та визрівання ферментованих ковбас. Участь молочнокислих бактерій пов'язана з кислото- та ароматоутворенням, під дією їх протеолітичної активності білки розщеплюються до вільних амінокислот – важливих компонентів, формуючи приємний смак та аромат ковбас. Вони відповідають за утворення кольору, гігієнічну безпечність виробів із м'яса. Важлива роль також відводиться мікрококам або стафілококам, які забезпечують стабільне забарвлення, зменшують вміст залишкового нітриту натрію, сповільнюють процес окислювання і прогірклості жирів та призводять до формування ароматичних сполук [465].

Біологічно активні заквашувальні композиції для виробництва ферментованих м'ясних продуктів розробляли на основі мікроорганізмів різних таксономічних груп селекціонованих та з банку культур відділу [32].

Для первинного дослідження характеру взаємовідносин між відібраними штамами різних таксономічних груп було використано метод “лунок”.

Для дослідження було взято 15 нововиділених та ідентифікованих штамів, а саме, *L. rhamnosus* (3304, 3305), *L. coryniformis* ssp. *coryniformis* (4У), *L. curvatus* 3001, *L. casei* ssp. *tolerans* 3340, *Propionibacterium acnes* (7У-2, В-Р-48-

1), *M. varians* (5201), *M. roseus* 5401, *M. nishinomiyaensis* (15У, 18У), *Staphylococcus simulans* (5301), *S. saprophyticus* (14У-2), *S. hominis* (12 Р), *S. epidermis* (2В-2), *L. plantarum* (3200, 3201), *L. rhamnosus* (3303), *L. casei* (3321, 3302), *M. varians* (5200, 5201, 5204), *M. roseus* (5400), *S. simulans* (5301).

На основі цих штамів було утворено 182 двокомпонентні комбінації (табл. 9.1). У результаті досліджень було встановлено 3 типи взаємовідносин між лактобацилами, пропіоновокислими бактеріями та мікрококами і стафілококами: I - синергізм, II - коменсалізм, III - активний антагонізм.

Так, інтенсивне взаємне стимулювання лакто- та пропіоновокислих бактерій і коків (I) спостерігали у 27 комбінаціях (див. табл. 9.1), а спільне співіснування кокових штамів з паличкоподібними – у 113 комбінаціях. Зокрема, у 43 та 9 комбінаціях встановлено стимулювання росту мікрококів та стафілококів лактобактеріями та пропіоновокислими бактеріями, відповідно (II). У 5 композиціях спостерігали стимулювання росту лактобактерій та пропіоновокислих бактерій мікрококами і стафілококами - також у 5 композиціях. У 51 комбінації зафіксували рівномірний розвиток компонентів за спільного культивування. Ці комбінації характеризувались такою формою симбіозу – коменсалізмом (II).

Решта комбінацій проявляла активний антагонізм (III) по відношенню один до одного. Так, взаємне пригнічування було визначено лише у 4 комбінаціях *L. coryniformis* ssp. *coryniformis* (4У) і *L. curvatus* (3001) з *M. roseus* (5400) та *L. rhamnosus* (3303) з *M. varians* (5206). До III форми взаємовідносин також віднесли комбінації, у яких лактобактерії негативно впливали на ріст мікрококів та стафілококів (13 комбінацій) та 1 комбінацію (*P. acnes* 7У-2+ *M. varians* 5204), де пропіоновокислі бактерії пригнічували ріст мікрококів. У 24 комбінаціях встановлено пригнічування лактобактерій мікрококами та стафілококами.

На основі методу “лунок” [163] було визначено, що 15 % двокомпонентних комбінацій штамів мікрококів та стафілококів з лактобактеріями та пропіоновокислими бактеріями показали взаємне стимулювання (синергізм), 62 % – характеризувались коменсалізмом та 23 % комбінацій проявляли активний антагонізм.

Таблиця 9.1

Характеристика спільного культивування штамів

№ п\п	Коки МКБ	5200	5300	5203	5400	5201	5204	12Р	2В-2	5206	5401	5301	5304	15У	18У
1	3302	I	II	II	I	II	II	II	III	II	I	II	II	II	II
2	3303	II	I	II	III	II	III	II	II	III	I	II	II	II	II
3	3200	I	I	III	II	III	II	II	III	II	II	II	II	II	II
4	3321	II	III	III	II	II	III	II	II	II	II	II	II	II	II
5	3322	II	II	III	II	II	III	II	III	II	II	II	I	II	II
6	3201	I	II	II	I	II	III	I	II	I	II	II	II	II	I
7	3305	III	III	II	II	II	II	II	I	I	I	II	II	II	I
8	1У-2	II	III	III	III	III	III	III	II	II	II	I	I	II	II
9	3У-1	III	I	II	III	III	III	II	III	II	II	II	II	II	III
10	3205	III	III	II	III	III	II	II	III	III	III	II	I	I	III
11	3001	III	II	II	III	III	II	II	III	II	II	I	III	I	III
12	7У-2	II	II	II	II	II	III	II	II	II	II	I	I	II	II
13	В-Р _к -48-1	II	II	II	II	II	II	II	II	II	II	II	II	II	I

Примітка. I - синергізм, II - коменсалізм, III - активний антагонізм.

Таким чином, було відібрано 19 двокомпонентних композицій штамів *M. varians* (5200, 5201), *M. roseus* (5400, 5401), *M. nishinomiyaensis* (18У), *S. simulans* (5300, 5301), *S. saprophyticus* (5304) з лактобактеріями *L. casei* (3322, 3302), *L. rhamnosus* (3303, 3304, 3305), *L. coryniformis* ssp. *coryniformis* (4У), *L. plantarum* (3200, 3201) та *P. acnes* (7У-2, В-Р-48-1). Ці комбінації характеризуються взаємним стимулюванням штамів та активним стимулюванням лакто- та пропіоновокислими бактеріями мікрококами та стафілококами.

Для порівняння продуктивності відібраних двокомпонентних комбінації з монокультурами була перевірена їхня здатність до спільного росту у м'ясопептонному бульйоні з додаванням 3 % хлориду натрію, 1 % глюкози (рН 7,0±1) за показниками кислотоутворення та нагромадженням клітин кожного зі складників комбінацій упродовж 20 год (табл. 9.2., рис. 9.1)

Таблиця 9.2

Характеристика штамів та комбінацій з ними

Штами		Активна кислотність, од. рН	Бінарні комбінації	Активна кислотність, од. рН
<i>L. casei</i> ssp. <i>rhamnosus</i>	3304	5,37±0,18	10Р+5В	7,12±0,17
	3305	6,92±0,12	2037+5В	5,67±0,22
	3303	4,38±0,12	10Р+7В	6,13±0,19
<i>L. casei</i> ssp. <i>casei</i>	3322	3,85±0,24	3303+7В	5,65±0,22
	3302	4,37±0,19	3302+7В	5,61±0,31
<i>L. plantarum</i>	3200	6,63±0,11	3302+М6-3	4,98±0,25
	3201	7,06±0,11	10Р+18У	7,21±0,12
<i>L. coryniformis</i> ssp. <i>coryniformis</i> 4У		5,00±0,123	2037+18У	7,06±0,14
<i>L. curvatus</i>	3001	4,95±0,17	В-Р _к -48-1+18У	5,48±0,34
<i>L. casei</i> ssp. <i>tolerans</i>	3340	5,05±0,181	7У-2+8У	5,04±0,26
<i>P. acnes</i>	7У-2	5,33±0,12	5У-3+15У	6,60±0,17
	В-Р-48-1	5,37±0,21	4У+15У	7,00±0,11
<i>M. nishinomiyaensis</i>	15У	7,65±0,12	3У-1+5300	4,15±0,3
	18У	7,33±0,13	1У-2+8У	4,96±0,28
<i>M. varians</i>	5206	7,26±0,11	5У-3+8У	4,10±0,31
<i>M. roseus</i>	5400	5,02±0,184	7У-2+14У-2	5,59±0,26
	5401	7,20±0,12	1У-2+14У-2	5,63±0,31
<i>S. simulans</i>	5300	4,10±0,23	4У+14У-2	5,50±0,24
	5301	4,98±0,22	6007+14У-2	4,13±0,26
<i>S. saprophyticus</i>	5304	5,83±0,21	Контроль	7,5

Встановлено, що після 20 год культивування окремі штами молочнокислих бактерій і мікрококів та стафілококів знижували активну кислотність на 6-42 % та 3-45 %, відповідно. Тоді як створені заквашувальні комбінації з мікрококами знижували активну кислотність на 4–33 %, а зі стафілококами – на 25-45 % відносно початкового значення (рН 7,5) у середовищі (див. табл. 9.1).

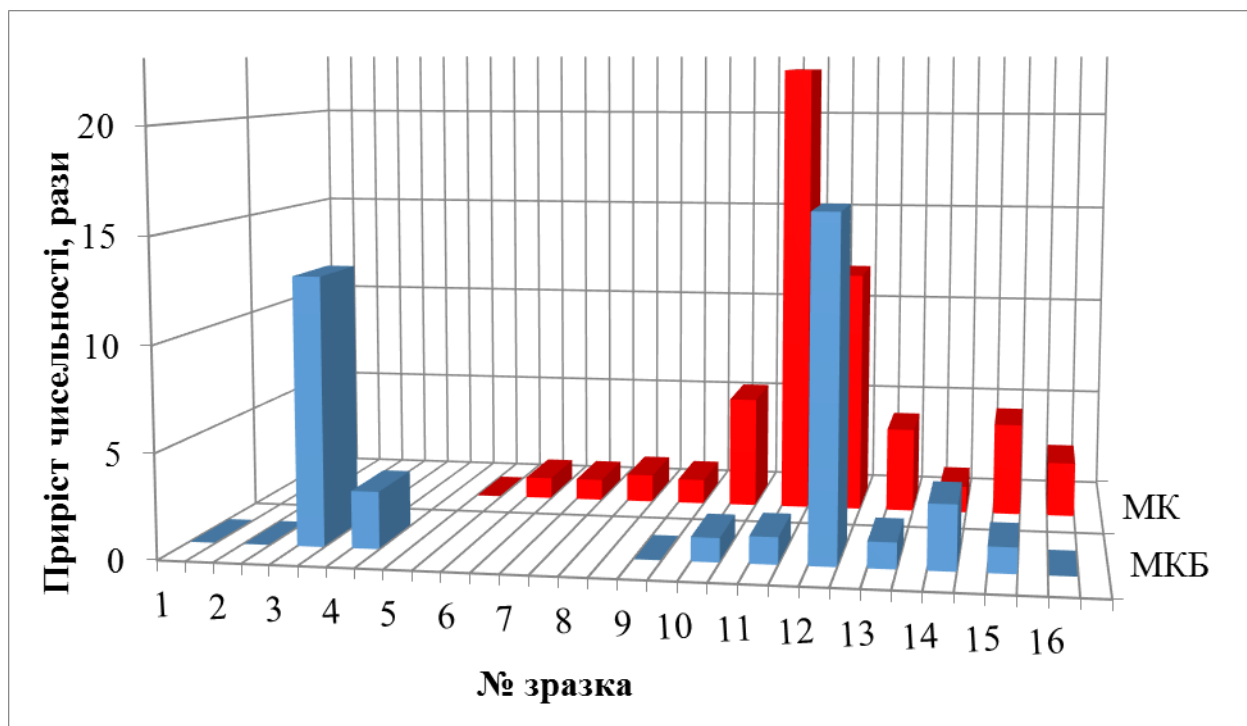


Рис. 9.1. Культивування окремих штамів та бінарних комбінацій упродовж 20 год. **№1** – 3201; **№2** - 3305; **№3** – 3302; **№4** – 3303; **№5** - 5206; **№6** - 5401; **№7** - 5400; **№8** - 18У; **№9** - 3305+5206; **№10** - 3201+5206; **№11** - 3305+5401; **№12** - 3303+5401; **№13** - 3302+5401; **№14** - 3302+5400; **№15** - 3305+18У; **№16** - 3201+18У. МКБ – молочнокислі бактерії, МК – мікрококи

У трьох комбінаціях № 10, 11, 12 (рис. 9.1) спостерігали збільшення чисельності як молочнокислих бактерій *L. rhamnosus* 3303, 3305 та *L. plantarum* 3201 на 2-13 %, так і мікрококів *M. varians* 5206, *M. roseus* 5401 – на 2-11% порівняно з приростом окремих штамів.

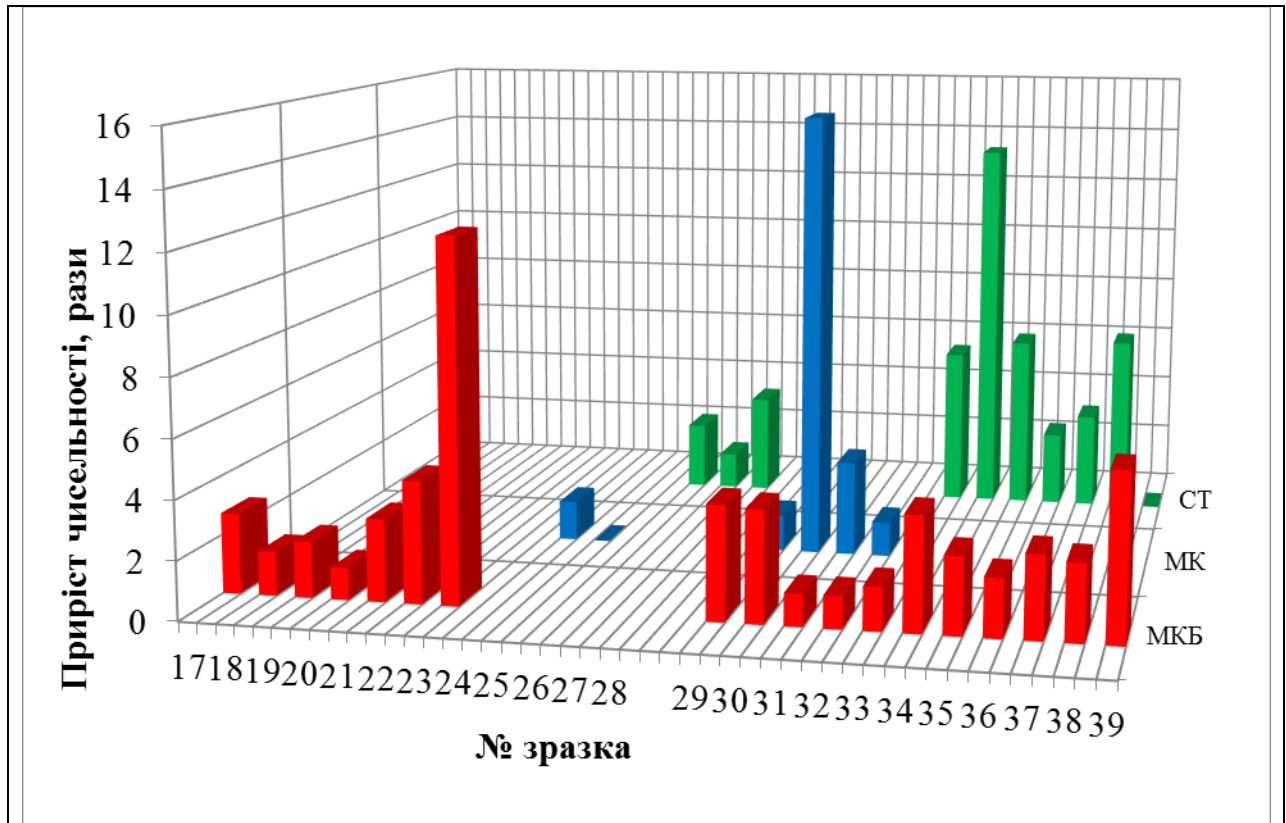


Рис. 9.2. Культивування окремих штамів та бінарних комбінацій упродовж 20 год. **№17** – 3322; **№18** - 3304; **№19** – 4У; **№20** – 3001; **№21** - 3У-1; **№22** - 7У-2; **№23** - В-Р-48-1; **№24** - 18У; **№25** - 15У; **№26** - 5300; **№27** - 5301; **№28** - 5304; **№29** - В-Р-48-1+18У; **№30** - 7У-2+5301; **№31** - 3001+15У; **№32** - 4У+15У; **№33** - 3У-1+5300; **№34** - 3304+5301; **№35** - 3001+5301; **№36** - 7У-2+5304; **№37** - 3304+5304; **№38** - 4У+5304; **№39** — 3322+5304.
 МКБ – молочнокислі бактерії, МК – мікрококи, СТ – стафілококи.

На рис. 9.2 у комбінаціях № 30, 34, 35, 38, 39 було також помічено зростання чисельності усіх компонентів комбінації в 2,6-11,5 рази. В комбінації № 33 спостерігали збільшення приросту тільки стафілококів в 3 рази, а в № 39, навпаки, збільшення молочнокислих бактерій в 5,6 разів.

У результаті проведених досліджень було відібрано 8 комбінацій, які було взято за основу для створення трьох- та чотирьох- та п'ятиштамових композицій, поєднуючи їх у різних варіантах.

У знежиреному молоці було перевірено комбінації молочнокислих бактерій за показниками енергії кислотоутворення (ЕКУ) та

молокозсідальною активності (МЗА) (табл. 9.3). Кількість внесеного інокуляту складала 3 % до об'єму поживного середовища.

Встановлено, що комбінації молочнокислих з пропіоновокислими бактеріями та композиції молочнокислих бактерій мали майже однакову енергією кислотоутворення та молокозсідальну активність (див. табл. 9.3). Це дає підставу брати всі утворені комбінації молочнокислих бактерій для залучення до складу заквашувальних композицій.

Таблиця 9.3

Характеристика комбінацій молочнокислих бактерій

№ ком-бінації	Бактеріальний склад	МЗА, год	ЕКУ, °Т	
			на момент згортання	гранична
1	<i>L. rhamnosus</i> 3304+ <i>P. acnes</i> 7У-2+ <i>L. rhamnosus</i> 3305+ <i>L. plantarum</i> 3201	20	74±2,5	240±2,7
2	<i>L. rhamnosus</i> 3304+ <i>L. rhamnosus</i> 3305	19	64±3,1	206±2,3
3	<i>L. rhamnosus</i> 3304+ <i>L. rhamnosus</i> 3305+ <i>L. plantarum</i> 2037	19	70±2,4	232±3,8
4	<i>L. coryniformis</i> 4У+ <i>L. casei</i> 3322+ <i>L. plantarum</i> 3201	20	60±1,4	204±1,7
5	<i>L. casei</i> 3302+ <i>L. rhamnosus</i> 3303+ <i>L. rhamnosus</i> 3305	19	66±3,3	224±2,5
6	<i>L. casei</i> 3321+ <i>L. casei</i> 3322+ <i>L. plantarum</i> 3201	24	64±1,5	200±2,8
7	<i>L. coryniformis</i> 4У+ <i>L. casei</i> 3322	20	62±2,3	208±8,7
8	<i>L. rhamnosus</i> 3304+ <i>L. rhamnosus</i> 3305+ <i>P. acnes</i> 7У-2	19	74±2,0	244±7,0
9	<i>L. rhamnosus</i> 3304+ <i>P. acnes</i> 7У-2	20	72±1,7	240±4,9
10	<i>L. rhamnosus</i> 3304+ <i>P. acnes</i> 7У-2+ <i>L. plantarum</i> 3201	21	62±1,8	200±1,4
11	<i>L. casei</i> 3322 + <i>L. rhamnosus</i> 3305 + <i>L. plantarum</i> 3201	24	56±1,3	190±2,8
12	<i>L. tolerans</i> 3340+ <i>L. coryniformis</i> 4У+ <i>P. acnes</i> B-P-48-1	24	62±3,3	200±1,3
13	+ <i>L. rhamnosus</i> 3303+ <i>L. plantarum</i> 3200	27	66±5,1	200±1,9
14	<i>L. casei</i> 3302+. <i>L. rhamnosus</i> 3303+ <i>L. plantarum</i> 3200	20	68±4,8	228±4,0

9.2. Дослідження технологічних властивостей заквашувальних композицій

Для створення трьох- чотирьох- та п'ятиштамових композицій було використано бінарні комбінації з різним співвідношенням між штамми різних таксономічних груп. Було скомпоновано 13 композицій, зокрема, 7 композицій із мікрококами та 6 – із стафілококами (рис. 9.3). Кількість внесеного інокуляту складала 5 % до об'єму поживного середовища.

За контроль (К-1) було взято заквашувальну композицію “Лакмік”, до складу якої входила чотирьохкомпонентна комбінація штамів *L. casei* ssp. *rhamnosus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *M. varians* [118].

Основними критеріями оцінювання перспективності заквашувальних композицій для ферментування м'ясної сировини були чисельність клітин кожного зі складників композиції, нітритредукуюча та протеолітична активності.

В усіх створених композиціях спостерігали приріст лактобактерій на 24 годину росту, а на кінець культивування у МПБ продовжувався приріст у композиціях № 2, 4, 5, 6, 10, 11, 12, 13 у 4,3–6,5 разів (рис. 9.3 а, б). Композиції № 1, 8 характеризувалися зниженням чисельності молочнокислих бактерій у 1,3 рази до початкового вмісту. У композиціях № 1, 2, 5, 11, не зважаючи на низький рівень рН, помічено приріст мікрококів у 3,7–28,6 рази до початкового вмісту. Приріст мікрококів на 72 год культивування у решти композицій зменшився у 1,2–2 рази.

У композиціях зі стафілококами № 8, 9 помічено їхній приріст у 3 рази до початкового вмісту (див. рис. 9.3. б). А у композиціях № 4, 7, 12, 13 спостерігали пригнічення стафілококів лактобактеріями, їхня чисельність залишалася на рівні початкової кількості, або зменшилася в 1,5 рази (див. рис. 9.3 а, б).

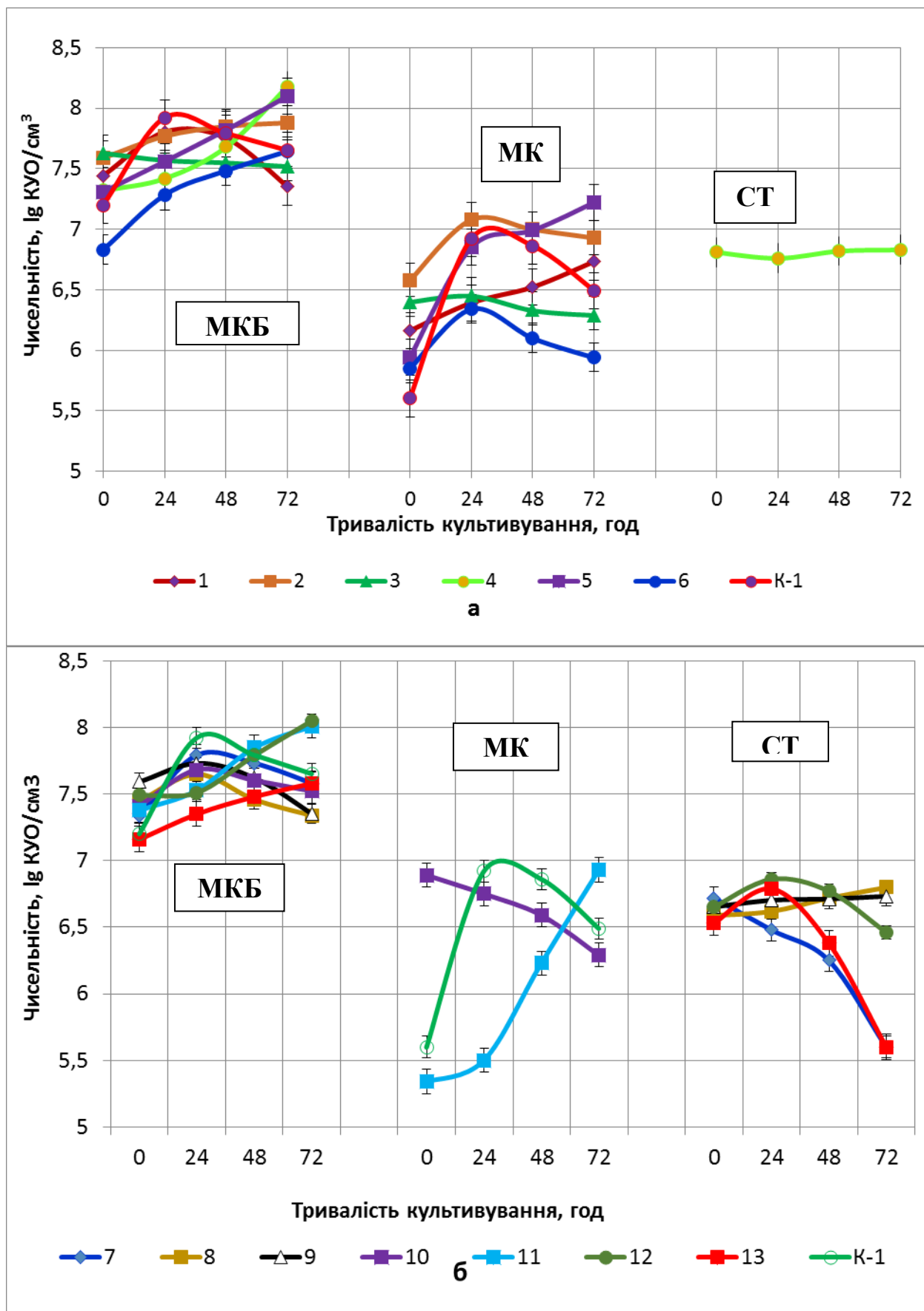


Рис. 9.3. Динаміка чисельності заквашувальних композицій під час спільного культивування №1-6 (а), №7-13 (б).

МКБ – молочнокислі бактерії, МК – мікрококи, СТ – стафілококи.

Таким чином, найстабільнішими за чисельністю були композиції молочнокислих бактерій з мікрококами (№ 2, 5, 6, 11), а зі стафілококами – (№ 4, 9), у яких зростала чисельність мікроорганізмів: МКБ – у 4,3–6,5 разів та мікрококів і стафілококів – у 7,7–28,6 разів. Для цих композицій спостерігали взаємне стимулювання складників, яке сприяло активному розвитку мікроорганізмів.

9.2.1 Нітритредукувальна активність.

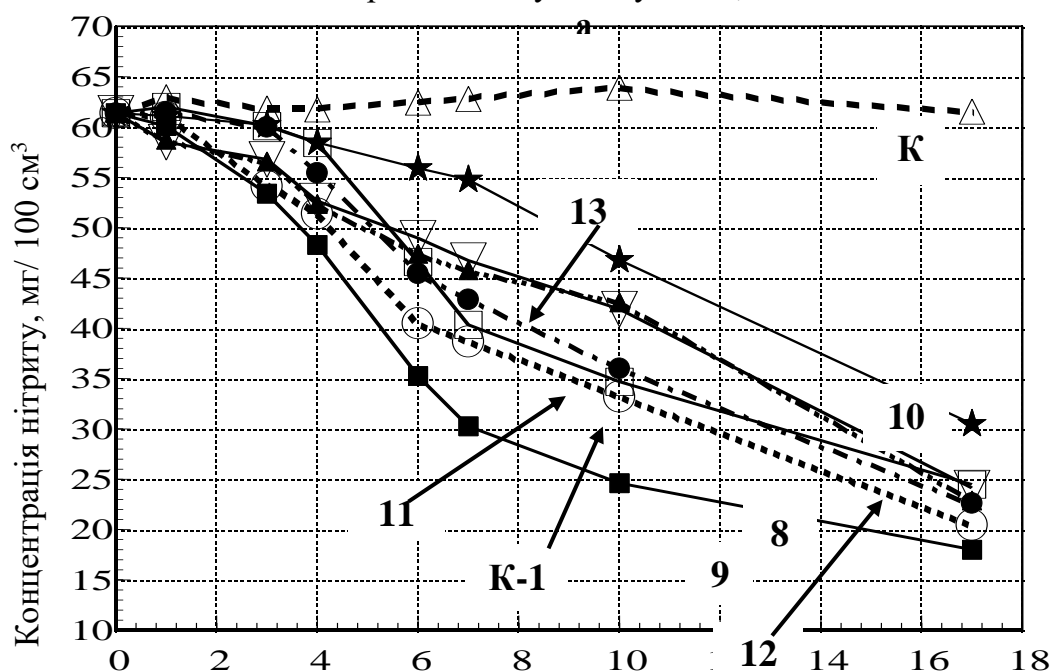
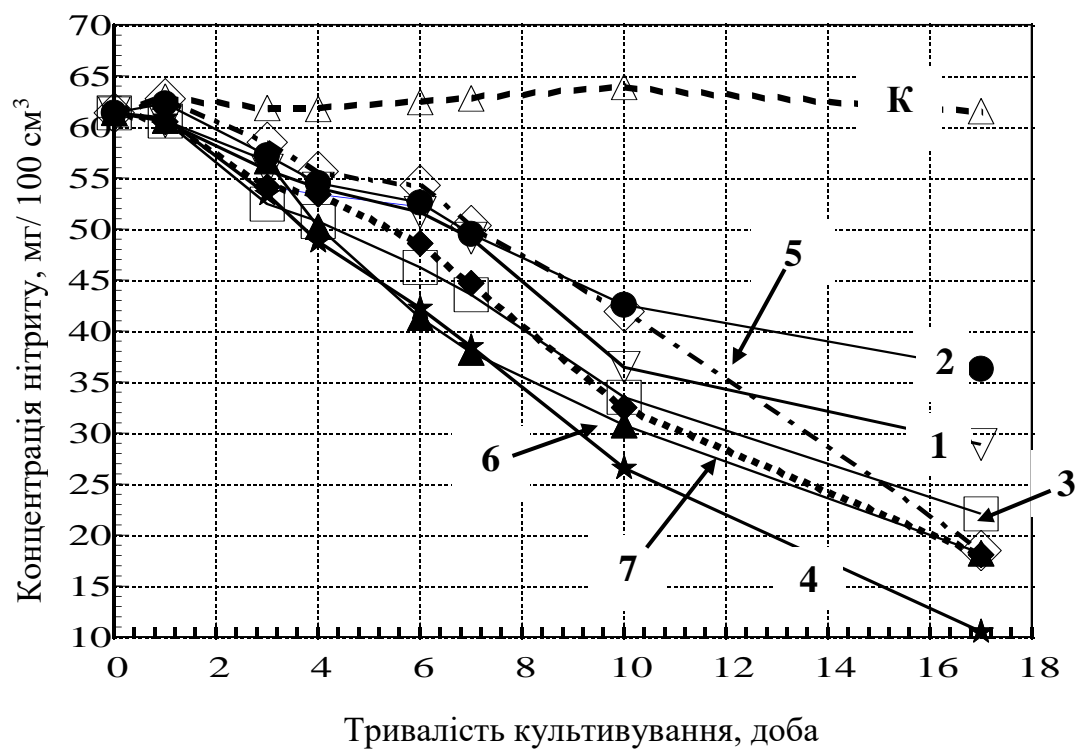
Як вже згадували в огляді літератури, для утворення стабільного кольору м'ясопродуктів необхідно вносити культури з високою нітритредукуючою активністю, а саме мікрококи, стафілококи та молочнокислі бактерії [445].

Було досліджено динаміку розкладання нітриту натрію створеними композиціями у середовищі МПБ з додаванням 1 % глюкози, 3 % NaCl та з початковим вмістом солі NaNO_2 60 мг/100 см³, яка в шість разів перевищує за рецептурою на ферментовані ковбаси [157, 257, 264].

У середовище вносили 5 % інокуляту мікроорганізмів і культивували впродовж 17 діб. Контролем було середовище без мікроорганізмів (рис. 9.5).

Встановлено, що досліджені композиції активно знижували вміст нітритів у культуральному середовищі – на 41 - 83 % від початкового. Найактивнішими з них були композиції № 4, 5, 6, 7, 8, 9 (див. рис. 9.4 а, б). Композиції молочнокислих бактерій зі стафілококами (№ 4, 7, 8, 9) інтенсивніше знижували вміст нітриту на 67-83 %, а композиції з мікрококами (№ 5, 6) — на 70-71 % порівняно з контролем К-1 (60%). Найменшою нітритредукуючою активністю характеризувались заквашувальні композиції з мікрококами № 2, 10 – на 41 %, 50 %, відповідно.

У контролі вміст нітритів залишався постійним упродовж всього експерименту (крива К). На кінець ферментування залишкова концентрація нітриту натрію у культуральній рідині, інокульованій композиціями з мікрококами та стафілококами, становила (36,3–18,2) мг/100 см³ та (24,5–10,5) мг/100 см³, відповідно.



6

Рис. 9.4. Динаміка вмісту нітриту натрію під час культивування заквашувальних композицій №1-7 (а), №8-14 (б).

а) 1 – 3304+7У-2+3201+3305+5206; 2 – 3304+3305+5401; 3 – 3304+3201+3305+5206; 4 – 3205+3322+3201+5304; 5 – 3302+3303+3305+5401; 6 – 3321+3322+3201+5400; 7 – 3205+3322+5304; К – контроль середовища без мікроорганізмів.

б) 8 – 3304+7У-2+3305+5301; 9 – 3304+7У-2+5301; 10 – 3304+7У-2+3201+5200; 11 – 3322+3305+3201+5200; 12 – 3У-1+3205+В-Р-48-1+5300; 13 – 3303+3200+5300; К-1 – 3302+3303+3200+5200; К – контроль середовища без мікроорганізмів.

Заквашувальні композиції № 4, 6, 7, 9, які відновлювали нітрит у культуральному середовищі на 70-83% є перспективними для ферментування м'ясної сировини. Вказані композиції мали нітритредукуючу активність вищу, ніж відому за літературними даними [364].

9.2.2. Протеолітична активність.

Протеолітичну активність композицій оцінювали за рівнем приросту вільних амінокислот у культуральному середовищі.

У м'ясопептонний бульйон, збагачений глюкозою та сіллю, вносили 5 % інокуляту композицій і культивували упродовж 7 діб (рис. 9.6).

На рис. 3.6 а, б, на 4 добу культивування у присутності заквашувальних композицій № 2, 3, 4, 6, 7 простежується динаміка приросту рівня циклічних амінокислот (Ц) на 0,6-9,6 %, ніж у контролі, при початковому рівні 486,1 мкг/см³, у решти композицій іде споживання цих амінокислот до 4,2 %. Далі на 7 добу ферментування спостерігали інтенсивне зниження циклічних амінокислот в усіх композиціях у межах від 3,5 до 26,1 %, крім № 10, де відбувався приріст на 22 % порівняно з початковим вмістом циклічних амінокислот.

Водночас, у середовищі за присутності композицій № 3-8, спостерігали динаміку нагромадження ациклічних амінокислот (АЦ) на (4,2-29,7) % упродовж всього терміну ферментування, порівняно з початковим вмістом АЦ = 882,2 мкг/см³.

На 4 добу у середовищі з усіма композиціями відбувалось зростання ациклічних амінокислот від 9,8 до 19,6 %, крім № 8, 9 де було зниження АЦ амінокислот на 4,5 % та 2,8 %, відповідно. Тоді як на 7 добу у середовищі з композиціями № 1, 2, 9, 10 знижувались ці амінокислоти більше на 2,35-29,7 %, порівняно з 4-ою добою культивування (див. рис. 3.6 а, б).

Серед заквашувальних композицій високим рівнем протеолізу порівняно з контролем К-1 характеризувались № 4, 5, 6, 7. Сумарна кількість вільних амінокислот найбільше зростала у варіантах з мікрококами (№ 5, 6) на 15 %. У решти композицій цей показник коливався у межах від 8 до 10 %.

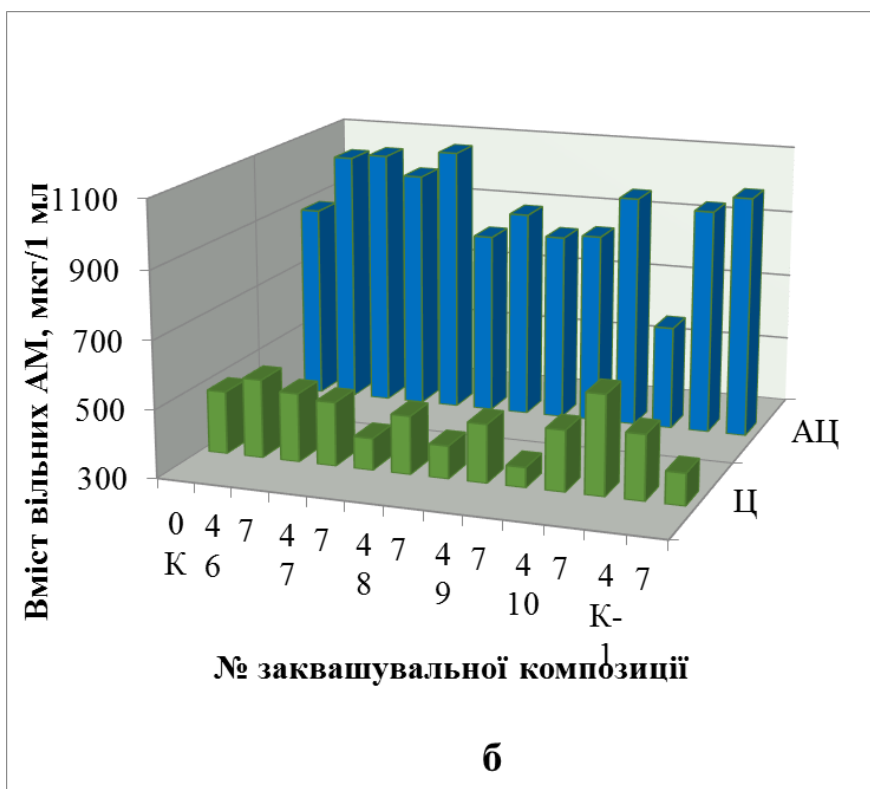
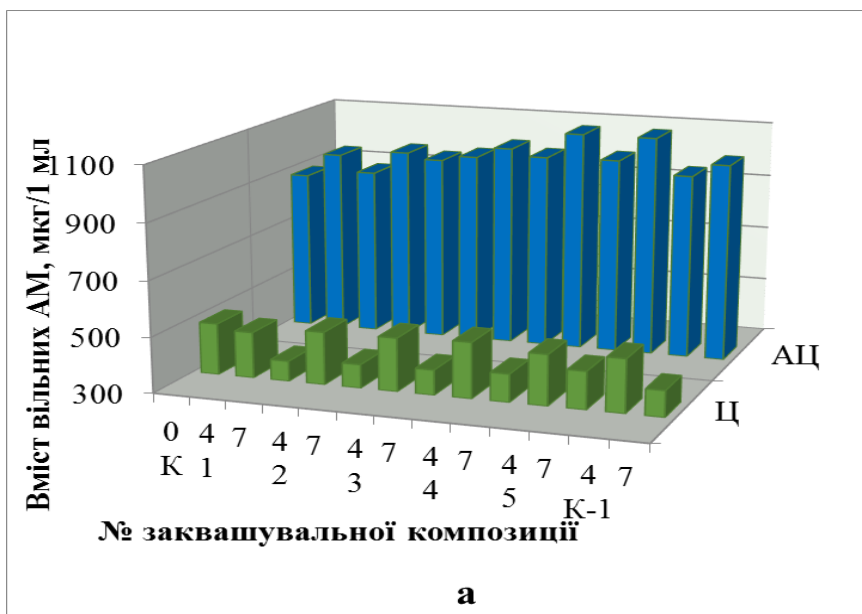


Рис. 9.6. Динаміка вмісту вільних амінокислот під час культивування заквашувальних композицій №1-5 (а), №6-10 (б).

а) **1** – 3304+7У-2+3201+3305+5206; **2** – 3304+3305+5401; **3** – 3304+3201+3305+5206; **4** – 3205+3322+3201+5304; **5** – 3302+3303+3305+5401; К-1 – 3302+3303+3200+5200. б) **6** – 3321+3322+3201+5400; **7** – 3205+3322+5304; **8** – 3304+7У-2+3305+5301; **9** – 3304+7У-2+5301; **10** – 3304+7У-2+3201+5200; К-1 – 3302+3303+3200+5200.0, 4, 7 — тривалість культивування, доба; Ц — циклічні амінокислоти, АЦ — ациклічні амінокислоти; К — початкова кількість вільних амінокислот.

Серед заквашувальних композицій високим рівнем протеолізу порівняно з контролем К-1 характеризувались № 4, 5, 6, 7. Найбільший приріст сумарної кількості вільних амінокислот спостерігали для варіантів з мікрококами (№ 5, 6) - на 15 % відносно початкового рівня у середовищі; у решти композицій - у межах від 8 до 10 % (див. рис. 9.6).

Отже, на 7 добу культивування композиція молочнокислих бактерій з мікрококами (№ 5) зменшувала рівень циклічних амінокислот (Ц) на 10 %, відносно до контролю. Також у середовищі, інокульованому цією композицією, відбувалось нагромадження ациклічних амінокислот (АЦ) на 30 % більше порівняно з контролем. У присутності композиції № 6 збільшувалась кількість як циклічних, так і ациклічних амінокислот на 3,5 % та 22 %, відповідно. Для композиції № 10 спостерігали зниження рівня ациклічних амінокислот на 31 %, тоді як циклічних він зростав на 22 % (рис. 9.7).

У результаті проведених досліджень було відібрано 4 композиції молочнокислих бактерій з мікрококами (№ 2, 5, 6, 11) та 2 зі стафілококами - (№ 4, 9). Вони характеризувалися високою продуктивністю кожного із компонентів заквашувальної композиції, зокрема встановлено, що чисельність МКБ зростала – у 4,3–6,5 разів та мікрококів і стафілококів – у 7,7–28,6 разів, відповідно. Для цих композицій спостерігали взаємне стимулювання складників, яке сприяло активному розвитку мікроорганізмів та прояву їхньої біохімічної активності. Найбільшу нітритредукуючу активність мали заквашувальні композиції № 4, 6, 7, 9, а високим рівнем протеолізу характеризувались - композиції № 4, 5, 6, 7.

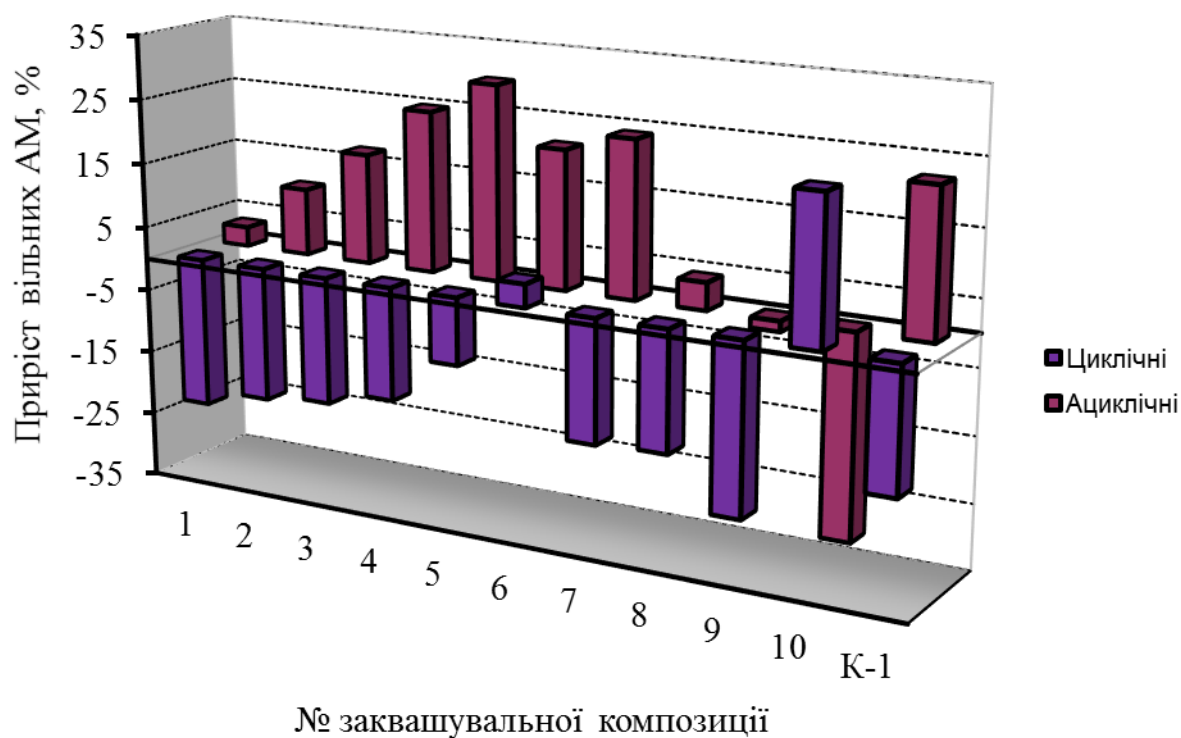


Рис. 9.6. Приріст вмісту вільних амінокислот (циклічних (Ц) та ациклічних (АЦ)) під час культивування заквашувальних композицій.

1 – 3304+7У-2+3201+3305+5206; 2 – 3304+3305+5401; 3 – 3304+3201+3305+5206; 4 – 3205+3322+3201+5304; 5 – 3302+3303+3305+5401; 6 – 3321+3322+3201+5400; 7 – 3205+ 3322+5304; 8 – 3304+7У-2+3305+5301; 9 – 3304+7У-2+5301; 10 – 3304+7У-2+3201+5200; K-1 – 3302+3303+3200+5200.

Таким чином, за технологічними параметрами - продуктивністю, нітритредукуючою та протеолітичною активностями, як перспективні для ферментування м'ясної сировини було відібрано 2 заквашувальні композиції молочнокислих бактерій з мікрококами (№ 5, 6) та 2 композиції зі стафілококами та пропіоновокислими бактеріями (№ 4, 9). Згадані композиції було взято до наступних досліджень.

9.2.3 Антагоністична активність культур та їхніх композицій

На основі селекційонованих штамів було створено заквашувальні композиції, які були успішно апробовані для ферментування сиров'ялених

суцільном'язових продуктів із м'яса курчат-бройлерів, свинини та яловичини.

Ці новостворені заквашувальні композиції склали основу для розробки біотехнології майбутніх бактеріальних препаратів, які отримали назву “ЛРР” та “КПК”, до складу яких залучено штами мікроорганізмів видів *L. rhamnosus* (3304 + 3305) + *Kocuria rosea* (*M. roseus*) 5401 та *L. casei* (3321 + 3322) + *L. plantarum* 3201 + *Kocuria rosea* (*M. roseus*) 5400, відповідно.

Вивчення антагоністичної активності штамів молочнокислих бактерій та коків щодо спонтанної мікробіоти м'яса є обов'язковою умовою добору культур до бактеріальних препаратів для виробництва ферментованих м'ясних продуктів. Антагоністичну активність відібраних штамів щодо тест-культур патогенних та умовно патогенних бактерій вивчали у дослідах *in vitro* за методом лунок (див. розд. 2).

Встановлено, що антимікробна дія притаманна не всім попередньо відібраним культурам (табл. 9.4).

Таблиця 9.4.

**Антагоністична активність виділених мікроорганізмів
(метод лунок, розмір зони пригнічення росту тест-культури, мм)**

Штам		Тест-культури				
		<i>P. vulgaris</i> ГІСК 160209	<i>E. coli</i> O-55 ГІСК 240111	<i>P. aeru- ginosa</i> АТСС 27853	<i>L. mono- cytogenes</i> NCTC 5105	<i>S. aureus</i> ГІСК 049065
<i>Kocuria rosea</i>	5401	5±1	12±1	0	0	0
	5400	0	10±1	0	0	0
<i>S. simulans</i>	5300	0	6±1	0	0	0
	5301	10±1	0	8±1	0	0
<i>L. casei</i>	3321	11±1	14±1	9±1	0	12±2
	3322	12±1	13±1	12±1	2±1	14±2
	3302	11±2	14±1	12±1	12±1	13±1
<i>L. rhamnosus</i>	3305	10±2	12±1	6±1	12±1	14±1
	3304	12±2	12±1	0	0	9±2
	3303	15±1	12±2	14±1	0	16±1
<i>L. plantarum</i>	3201	14±2	10±2	5±1	12±1	14±1
	3200	11±1	9±2	11±2	0	12±2

Примітка. Прояв антагоністичної активності виділено жирним шрифтом.

Більшу кількість штамів-антагоністів помічено серед молочнокислих бактерій, тоді як штами роду *Micrococcus* дещо поступалися їм за цією властивістю. Кожна з досліджених культур мала свій характерний спектр інгібуючої дії щодо патогенних і умовно патогенних бактерій.

Усі досліджені культури штамів молочнокислих бактерій стримували розвиток протею *P. vulgaris*, патогенних серотипів кишкової палички та коагулазопозитивних стафілококів *S. aureus* - розмір зони затримки росту коливався в межах (10-16) мм, (9-14) мм, (9-16) мм, відповідно (див. табл. 9.4). Штами *L. rhamnosus* 3305, *L. plantarum* 3201 та *L. casei* 3302 характеризувались також високою активністю до патогенної лістерії *L. monocytogenes* – зона затримки росту була (12±1) мм. Інші штами МКБ не давали зон повної затримки росту. Наші результати співпадали з результатами закордонних дослідників Giraffa G., González-Fandos M. E. та Leal-Sa'nchez M. [385, 389, 416].

Найчутливішими до штамів *L. casei* 3302, 3322, *L. rhamnosus* 3303 та *L. plantarum* 3201 виявилася синьогнійна паличка *Pseudomonas aeruginosa* - зона затримки росту – (11-14) мм. Інші штами до цієї тест-культури проявляли меншу антагоністичну активність – зони були у межах (6-9) мм, окрім штаму *L. rhamnosus* 3304.

Інтенсивність прояву антагоністичної активності виділених мікрококів та стафілококів була слабкішою, ніж у молочнокислих бактерій – зони затримки росту не перевищували 12 мм (див. табл. 9.4).

Мікрококи показали антагоністичний вплив на мікроорганізми виду *E.coli* O-55, (зони відсутності росту в межах 10–12 мм) та були неактивними щодо інших тест-культур. Мікрококи *Kocuria rosea* 5401 та *S. simulans* 5301 пригнічували розвиток протею – зона затримки росту (5-10) мм. Загалом, мікрококи та стафілококи пригнічували розвиток групи кишкової палички. Це збігається з даними літератури, що штами *M. varians*, *Micrococcus caseolyticus* продукують бактеріоцини і пригнічують розвиток патогенної та умовно-патогенної мікробіоти: *E. coli*, *P. vulgaris*, *B. subtilis*, *B. mesentericus*

[444].

На основі відібраних штамів було створено дво-, трьох- та чотирьох-компонентні заквашувальні композиції, які мали антагоністичну активність щодо патогенної та умовнопатогенної мікробіоти. Результати представлено у табл. 9.5.

Таблиця 9.5

**Антагоністична активність композиції на основі мікроорганізмів
різних таксономічних груп**

Вид мікроорганізму	Кіль- кість компо- зицій	Кількість композицій – антагоністів до тест - культури				
		<i>P. vulgaris</i> ГІСК 160209	<i>E. coli</i> O-55 ГІСК 240111	<i>P. aeru- ginosa</i> ATCC 27853	<i>L. mono- cytogen es</i> NCTC 5105	<i>S. aureus</i> ГІСК 049065
<i>L. casei</i> 3321+ <i>L. casei</i> 3322	3±0,2	3±0,1	3±0,2	0	3±0,2	3±0,1
<i>L. casei</i> 3321+ <i>L. plantarum</i> 3201	6±0,5	6±0,5	3±0,2	5±0,4	6±0,5	6±0,5
<i>L. casei</i> 3321+ <i>L. casei</i> 3322+ <i>L. plantarum</i> 3201	7±0,6	7±0,5	7±0,8	5±0,5	7±0,9	7±1,0
<i>L. casei</i> 3321+ <i>L. plantarum</i> 3201+ <i>K. rosea</i> 5401	14±2,4	11±1,5	8±1,0	10±1,6	4±0,5	8±1,4
<i>L. casei</i> 3322+ <i>L. plantarum</i> 3201+ <i>S. simulans</i> 5301	14±2,5	12±1,8	5±0,5	12±1,6	0	9±0,8
<i>L. casei</i> 3321+ <i>L. casei</i> 3322+ <i>L. plantarum</i> 3201+ <i>K. rosea</i> 5401	7±1,3	7±1,2	6±1,0	5±0,5	6±0,5	5±0,5

З досліджених 58 заквашувальних композицій на основі молочнокислих мікроорганізмів, мікрококів та стафілококів виявлено антагоністичну активність по відношенню до *P. vulgaris* у 94,8 % створених композицій, *S.*

aureus - 77,6 %, *E. coli* O-55 – 70,7 %, *P. aeruginosa* – 63,8 %, *Listeria monocytogenes* - 51,7 %.

Досліджені закваски мають різний ступінь антагоністичної активності, про що свідчить величина зон затримки росту тест-культур, розмір яких коливався від 5 до 26 мм.

Слід зазначити, що найбільша антагоністична активність проявлялася в композиціях, причому величина зон затримки росту тест-культур у різних штамів була різною. Для двокомпонентних композицій максимальна зона затримки росту щодо *L. monocytogenes* - досягала 12-18 мм, *P. vulgaris* - 10-16 мм, *E. coli* 11-14 мм, *S. aureus* – 10-13 мм, у та *P. aeruginosa* – 11-12 мм.

Із 35 досліджених трьохкомпонентних композицій лише 31 % з їхнього числа пригнічували ріст *Listeria monocytogenes*. Стосовно *P. aeruginosa* зони затримки росту величиною 10-15 мм спостерігали для 77 % композицій, а *E. coli* для 25 % композицій.

Всі 7 чотирьохкомпонентні композиції МКБ та МК пригнічували ріст *P. vulgaris* і лише для двох композицій не встановлено затримки росту *S. aureus* та *P. aeruginosa*, та в одній - *E. coli* і *L. monocytogenes*, що свідчило про відсутність антагоністичної дії.

Остаточню як перспективні для створення бактеріального препарату було вибрано 2 заквашувальні композиції наступного складу та співвідношення між штамми: №1 - “ЛРР” *L. rhamnosus* (3304 + 3305) + *Kocuria rosea* 5401 (2:2:2) та № 2 - “КПК” (*L. casei* (3321 + 3322) + *L. plantarum* 3201 + *Kocuria rosea* 5400 (1:1:2:2).

9.3. Опрацювання складу поживного середовища та умов нагромадження заквашувальних композицій

“ЛРР” та “КПК”

Оскільки лакто- (МКБ) і мікрококи (МК) характеризуються різними вимогами до джерел живлення і енергії, для здійснення їх спільного

культивування необхідно підібрати такий склад середовища, що буде оптимальним для розвитку кожного з мікробних компонентів.

Як контроль (К) було обрано середовище на основі м'ясопептонного бульйону з додаванням глюкози.

При обґрунтуванні складу поживного середовища для нагромадження біомаси композицій ми спирались на власний досвід у культивуванні молочнокислих бактерій та мікрококів.

Поживні середовища готували на воді з додаванням компонентів, які необхідні для успішного розвитку бактерій – джерел вуглецю, азоту, мікроелементи. Було розроблено п'ять варіантів поживних середовищ (табл. 9.6), які розрізнялись між собою за джерелом та кількістю азотного та вуглецевого компонентів.

Основу цих середовищ склали цитриновий та оцтовокислий натрій, мінеральні солі Mg і Mn, Твін-80, NaCl та пептон. Поживне середовище № 1 готували на вищезначеній основі з додаванням суміші глюкози, аскорбінової кислоти, сульфату заліза, фосфатів. Для середовищі № 2 використовували глюкозу та лактозу, у співвідношенні (1:1), додатково вносили сульфат заліза поживний бульйон, або м'ясну воду та вітамін B₁₂; зменшили вміст пептону вдвічі, відсутня аскорбінова кислота та кукурудзяний екстракт (КЕ). До основи середовища № 3 додали глюкозу та лактозу, як у середовищі № 2, сухе знежирене молоко (СЗМ), аскорбінову кислоту в п'ять разів більше, ніж у № 1, а також дріжджовий автолізат (ДА) як джерело амінокислот та вітамінів, відсутні такі компоненти, як КЕ, поживний бульйон, вітамін B₁₂, та сіль фосфату амонію [442].

У середовище № 4 було внесено КЕ і ДА, глюкозу (2 %), вітамін B₁₂, та відсутні солі сульфату заліза, NH₄H₂PO₄, аскорбінова кислота. В основі середовища № 5 зменшили вміст пептону та КЕ вдвічі, подвоїли частку ДА, додали глюкозу, лактозу, аскорбінову кислоту, вітамін B₁₂, не вносили солі сульфату заліза, NH₄H₂PO₄ та поживний бульйон (див. табл. 3.3).

Таблиця 9.6

Склад поживних середовищ

Компоненти	Варіанти середовищ					
	К	1	2	3	4	5
СЗМ, г	-	-	-	10	-	-
Вода, дм ³	-	1	1	1	1	1
Цитрат натрію, г	-	10	10	10	2	2
Ацетат натрію, г	-*	5	5	5	5	5
MgSO ₄ , г	-	0,5	0,5	0,2	0,2	0,2
MnSO ₄ , г	-	0,1	0,1	0,5	0,05	0,05
Твін-80, см ³	-	1	1	1	1	1
NaCl, г	5	5	5	5	5	5
FeSO ₄ ·7H ₂ O, мг	-	10	10	10	-	-
Пептон, г	10	10	5	10	10	5
М'ясна вода, см ³ (Поживний бульйон, г)	1000 (17)	-	150 (6)	-	-	-
Кукурудзяний екстракт, см ³	-	-	-	-	20	10
Дріжджовий автолізат, см ³	-	-	20	20	20	20
Аскорбінова кислота, мг	-	100	-	500	-	100
B ₁₂ , мг	-	-	0,05	-	0,05	0,05
Глюкоза, г	20	20	10	10	20	10
Лактоза, г	-	-	10	10	-	10
K ₂ HPO ₄ , г	-	1,0	1,0	2,0	2,0	2,0
NH ₄ H ₂ PO ₄ , г	-	1,0	1,0	-	-	-
pH до стерилізації	7,2	7,4	7,4	8,0	7,4	7,4
pH після стерилізації	7,1	7,1	7,1	6,5	6,5	6,5
pH після додавання вуглеводів, аскорбінов. к-ти		6,6		6,8		6,9
pH готового середовища	6,7	6,5	6,8	6,6	6,65	6,74

Примітка *. (-) компонент середовища відсутній.

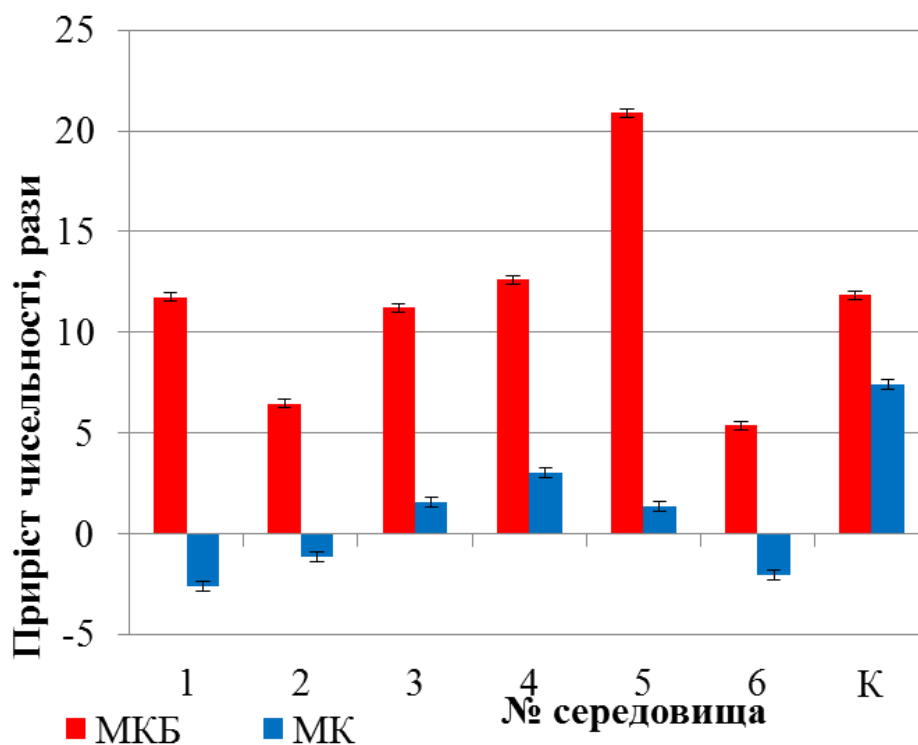
Відібрані композиції “ЛРР” та “КПК” мали температурний оптимум росту у межах (30-35)°C, тому культивування вели за температури (32±1) °C впродовж 18 год. Інтенсивність розвитку заквашувальних культур у поживних середовищах оцінювали за динамікою нагромадження клітин, оптичною густиною та зміною активної кислотності (рис. 9.7 та 9.8).

Було встановлено, що у середовищах № 1 та № 5 нагромадження біомаси молочнокислих бактерій композиції “ЛРР” відбувалося повільно і за весь

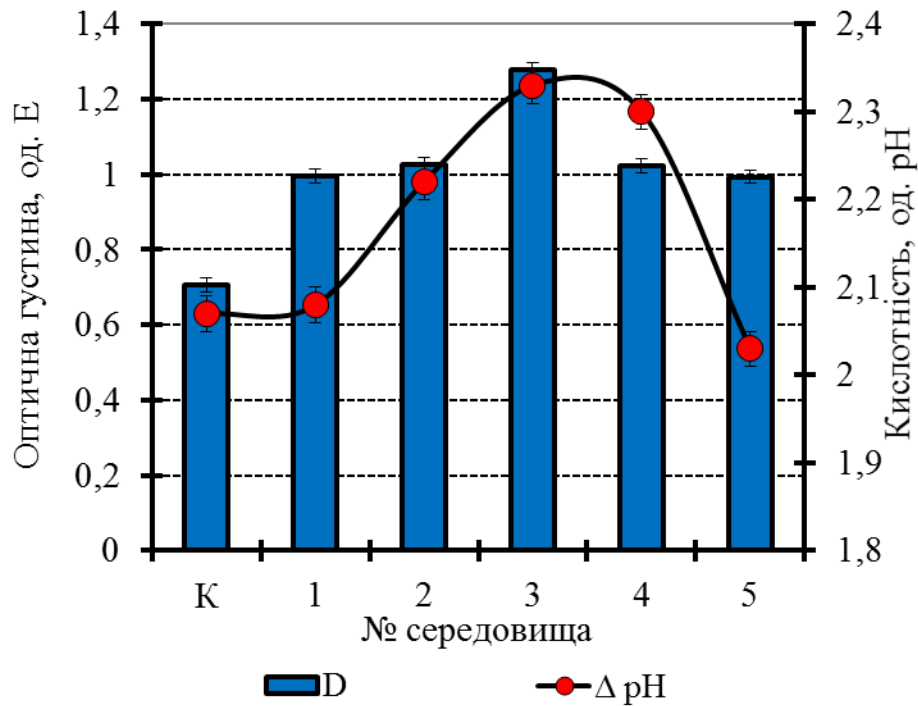
термін культивування вона зростає лише в 5,37–6,46 разів, а мікрококи зовсім не вирости порівняно з початковим вмістом у контрольному середовищі К (рис. 9.7 а). Додавання до середовищ № 2, № 3 та № 4 - поживного бульйону, КЕ і ДА, вітаміну В₁₂ та СЗМ дало очікувану інтенсифікацію розвитку МКБ та мікрококів (МК): їхня концентрація збільшилась у 11,2-20,9 разів та у 1,3-3,0 рази, відповідно.

Оптична густина культуральної рідини “ЛРР” також зростала інтенсивніше у поживних середовищах (ПС) № 2 - 4 у (1,5 -1,8) рази по відношенню до контролю. В цих середовищах спостерігали зниження кислотності “ЛРР” на 2,2-2,3 од. рН (рис. 9.7.б).

Найкращі показники приросту чисельності композиції “ЛРР” було отримано у варіантах середовищ № 2, № 3, № 4, зокрема, урожайність молочнокислих бактерій досягала $(1,1-2,1) \cdot 10^9$ КУО/см³, а мікрококів - $(1,0-1,73) \cdot 10^7$ КУО/см³.



а



б

Рис. 9.7. Нагромадження біомаси відібраної композиції ЛРР (а) та зміна оптичної густини та кислотності (б) в процесі культивування у різних середовищах.

МКБ – молочнокислі бактерії, *МК* – мікрококи, 1, 2, 3, 4, 5, К – варіанти поживних середовищ, D – оптична густина.

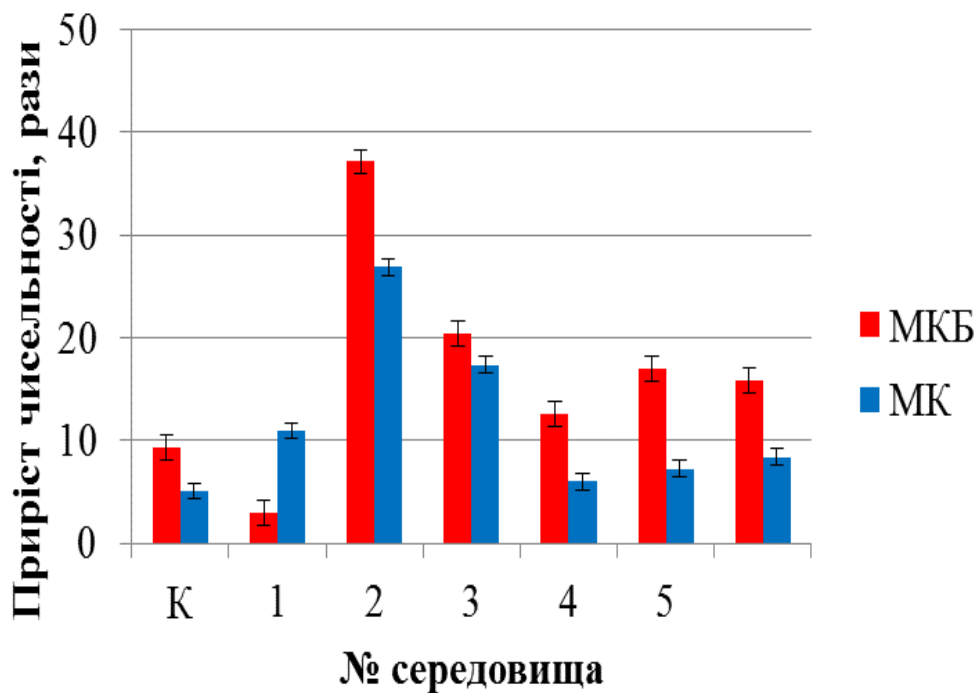
У ПС № 3 був нижчий приріст молочнокислих бактерій та більший приріст мікрококів композиції “ЛРР” відносно чисельності у середовищах № 2 та № 4. Ці середовища були відібрані для наступних досліджень.

Щодо заквашувальної композиції “КПК”, то у ПС К, № 1, № 4 та № 5 чисельність молочнокислих бактерій зросла у межах від 3 до 17 разів, а мікрококів - (6 – 11) разів порівняно з початковим вмістом. У ПС № 2 та № 3 спостерігали в (17 - 34) рази більший приріст чисельності “КПК”, ніж у вище зазначених середовищах (див. рис.9.7. а).

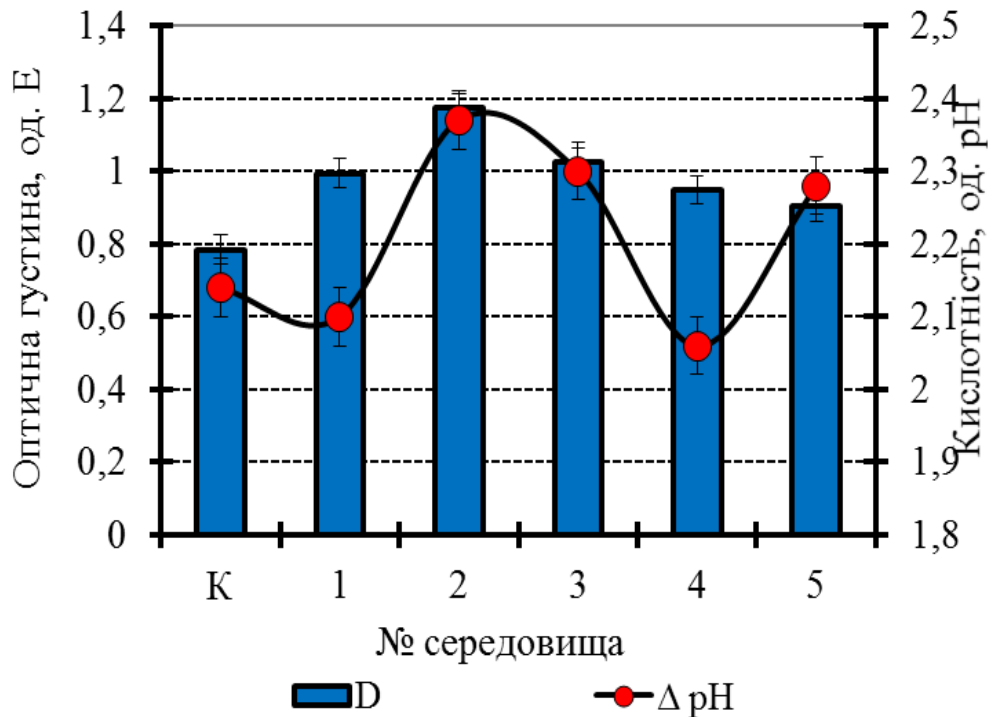
Водночас у цих середовищах наприкінці культивування оптична густина культуральної рідини “КПК” досягла рівня 1,025-1,174 од. E, та відбулось значне зниження кислотності на 2,3-2,4 од. pH (див. рис. 9.7 б). Отже, композиція “КПК” мала найбільший приріст чисельності у середовищах № 2 та № 3.

Щоб переконатися, що відібрані середовища задовольняють потреби у поживних речовинах кожного зі складників композицій, було простежено їхню динаміку розвитку в цих середовищах за періодичного росту та без контролю pH.

Культивування композицій “ЛРР” та “КПК” вели впродовж 16-24 год за температури $(32\pm 1)^\circ\text{C}$. Кількість інокуляту складала 6 % від об’єму середовища. Для нагромадження бактеріальної маси композицій було використано постадійний спосіб культивування у поживних середовищах. Спочатку вирощували мікрокок упродовж 3 год, а потім додавали суміш молочнокислих бактерій і продовжували спільне культивування до означеного терміну. Цей спосіб був експериментально підтверджений на прикладі препарату “Лакмік” та “МКС” [118, 35].



а)



б)

Рис. 9.8. Нагромадження біомаси відібраної композиції КПК (а) та зміна оптичної густини та кислотності (б) в процесі культивування у різних середовищах.

МКБ – молочнокислі бактерії, МК- мікрококи, 1,2, 3, 4, 5, К – варіанти поживних середовищ, D – оптична густина.

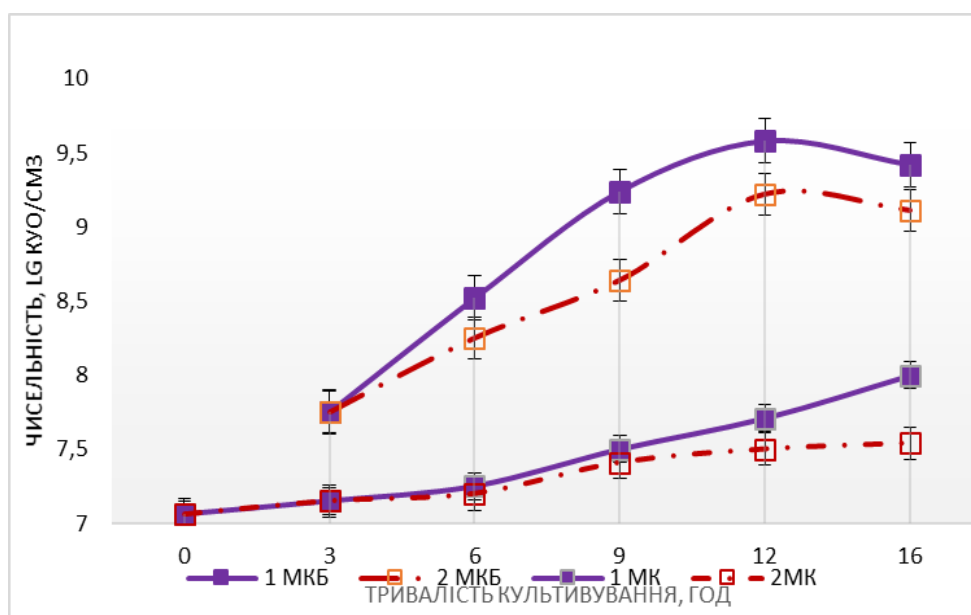
Розвиток мікроорганізмів оцінювали за зміною активної кислотності, чисельності бактерій та ступенем гідролізу джерел вуглецю (лактози і глюкози) й органічного азоту (пептидів). Концентрацію біомаси композиції „ЛРР” у досліджуваних середовищах розраховували виходячи з того, що $1,0 \cdot 10^{10}$ КУО/см³ становили 2,92 мг/см³ сирої біомаси.

Вирощування композиції „ЛРР” здійснювали за умов періодичної нейтралізації культуральної рідини 25 % розчином NH₄ОН через 3 год., 6 год., 9 год. культивування, та без неї, підтримуючи рН на рівні 6,5-6,6 (рис. 9.9).

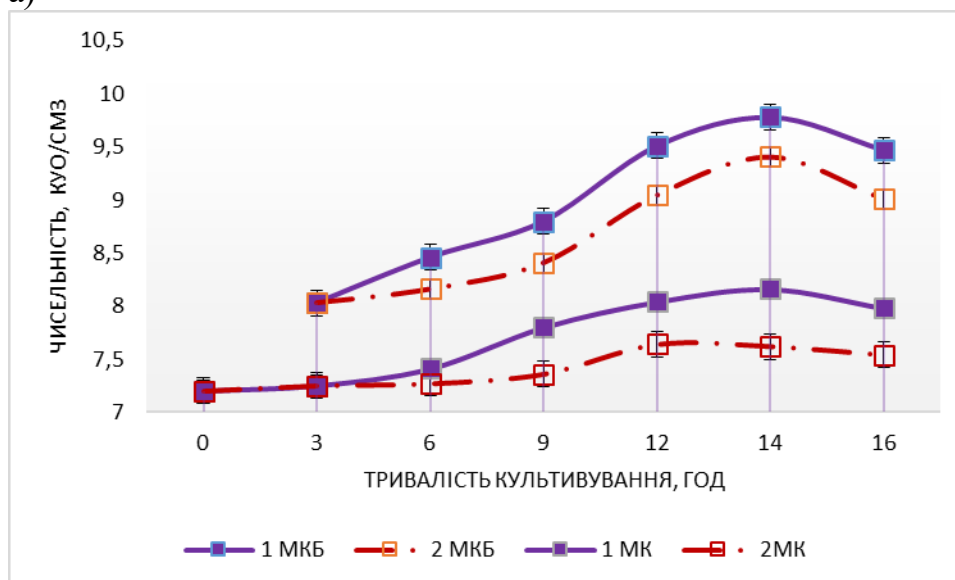
Аналіз росту молочнокислих бактерій композиції “ЛРР” у поживних середовищах без контролювання рН, показав, що фаза затримки росту (T_l) була майже однаковою у ПС № 3 і 4 та складала $T_l = (2,45 \text{ і } 1,98)$ год порівняно з ПС № 2 (див. рис. 9.8). У поживних середовищах № 2 та № 3 фаза логарифмічного росту молочнокислих бактерій тривала 5 - 6 год (у 2

рази довше, ніж у ПС № 4). У цій фазі вони росли з постійною швидкістю – константою поділу клітин (ν) коливалася у межах від 0,52 до 0,79 год⁻¹, що на (6 – 32) % швидше, ніж штам *L. rhamnosus* 3304 на середовищі з додаванням глюкози та цитрату.

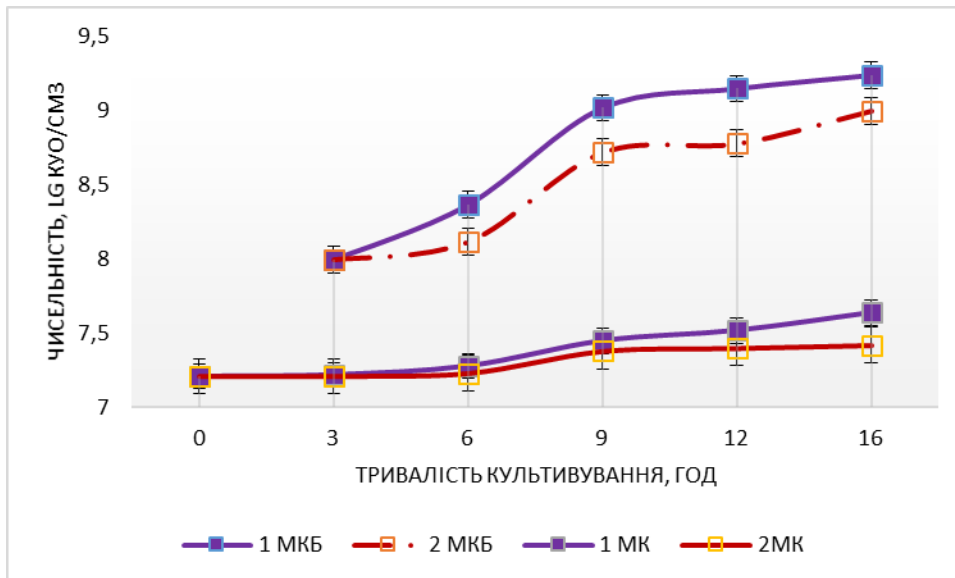
За весь термін культивування константа швидкості поділу клітин (ν) для МКБ мала найвищі показники за осту в ПС № 3 і дорівнювала 0,48 год⁻¹ (див. рис. 9.9 а-в, табл. 9.7).



а)



б)



в)

Рис. 9.9. Динаміка росту композиції “ЛРР” у поживних середовищах № 2 (а), № 3 (б), № 4 (в) з періодичною нейтралізацією культуральної рідини та без неї. МКБ – молочнокислі бактерії, МК – мікрококи, 1 – періодична нейтралізація культуральної рідини, 2 – без нейтралізації.

Аналогічну тенденцію спостерігали стосовно мікрококів у дослідних середовищах. У них також скоротилась фаза затримки росту і термін генерації клітин на (3 – 25) % та (12 – 52) %, відповідно, підвищилась константа швидкості поділу клітин (ν) в (1,1 - 1,4) рази та продуктивність до $(1,0 \pm 0,2) \cdot 10^8$ КУО/см³ (див. табл. 9.4) [75].

Розвиток компонентів композиції “ЛРР” у ПС № 3 за умов нейтралізації культуральної рідини відрізнявся від росту у інших ПС, про що свідчать основні параметри росту. Перш за все, слід відмітити певну синхронність росту молочнокислих бактерій і мікрококів. Значення терміну генерації складало, відповідно 1,18 і 2,5 год. Складники росли зі швидкістю поділу клітин у log-фазі 0,85 год⁻¹ для МКБ та 0,40 год⁻¹ для МК. Швидкість росту за весь термін культивування складала 0,59 і 0,26 год⁻¹ (див. табл. 9.7).

Таблиця 9.7

Основні параметри росту композиції “ЛРР”

Середовища	Умови культивування	Компоненти ЗК	X , КУО/см ³	$v_{\text{макс}}$, год ⁻¹	v , год ⁻¹	T_b , год	g , год
ПС № 2	без корегування рН	МКБ	$(1,6 \pm 0,3) \cdot 10^9$	0,52	0,40	0,63	1,92
		МК	$(3,2 \pm 0,2) \cdot 10^7$	0,23	0,14	5,09	4,34
	з періодичною нейтралізацією	МКБ	$(3,7 \pm 0,2) \cdot 10^9$	0,83	0,61	0,56	1,21
		МК	$(6,6 \pm 0,2) \cdot 10^7$	0,33	0,22	4,39	3,03
ПС № 3	без корегування рН	МКБ	$(1,2 \pm 0,1) \cdot 10^9$	0,79	0,48	2,45	1,26
		МК	$(5,6 \pm 0,2) \cdot 10^7$	0,19	0,1	5,54	5,26
	з періодичною нейтралізацією	МКБ	$(4,0 \pm 0,3) \cdot 10^9$	0,85	0,59	2,33	1,18
		МК	$(1,0 \pm 0,1) \cdot 10^8$	0,40	0,26	4,13	2,5
ПС № 4	без корегування рН	МКБ	$(7,4 \pm 0,3) \cdot 10^8$	0,69	0,32	1,98	1,45
		МК	$(2,5 \pm 0,2) \cdot 10^7$	0,21	0,1	5,26	4,76
	з періодичною нейтралізацією	МКБ	$(1,3 \pm 0,3) \cdot 10^9$	0,72	0,41	1,33	1,39
		МК	$(3,5 \pm 0,2) \cdot 10^7$	0,24	0,11	5,08	4,17

Отже, надалі використовували поживне середовище № 3, яке забезпечувало розвиток всіх складників композиції “ЛРР” з економічним ефектом $U = 0,07$ [74, 75].

Динаміку нагромадження біомаси композиції „КПК” досліджували на поживних середовищах № 2 та № 3 за однакових умов зі композицією “ЛРР”,

тобто, з періодичною нейтралізацією культуральної рідини та без неї до кислотності 6,5-6,6 од. рН (рис. 9.11 а-в). Концентрацію біомаси композиції „КПК” в досліджуваних середовищах розраховували виходячи з того, що $1,0 \cdot 10^{10}$ КУО/см³ становили 3,54 мг/см³ сирової біомаси.

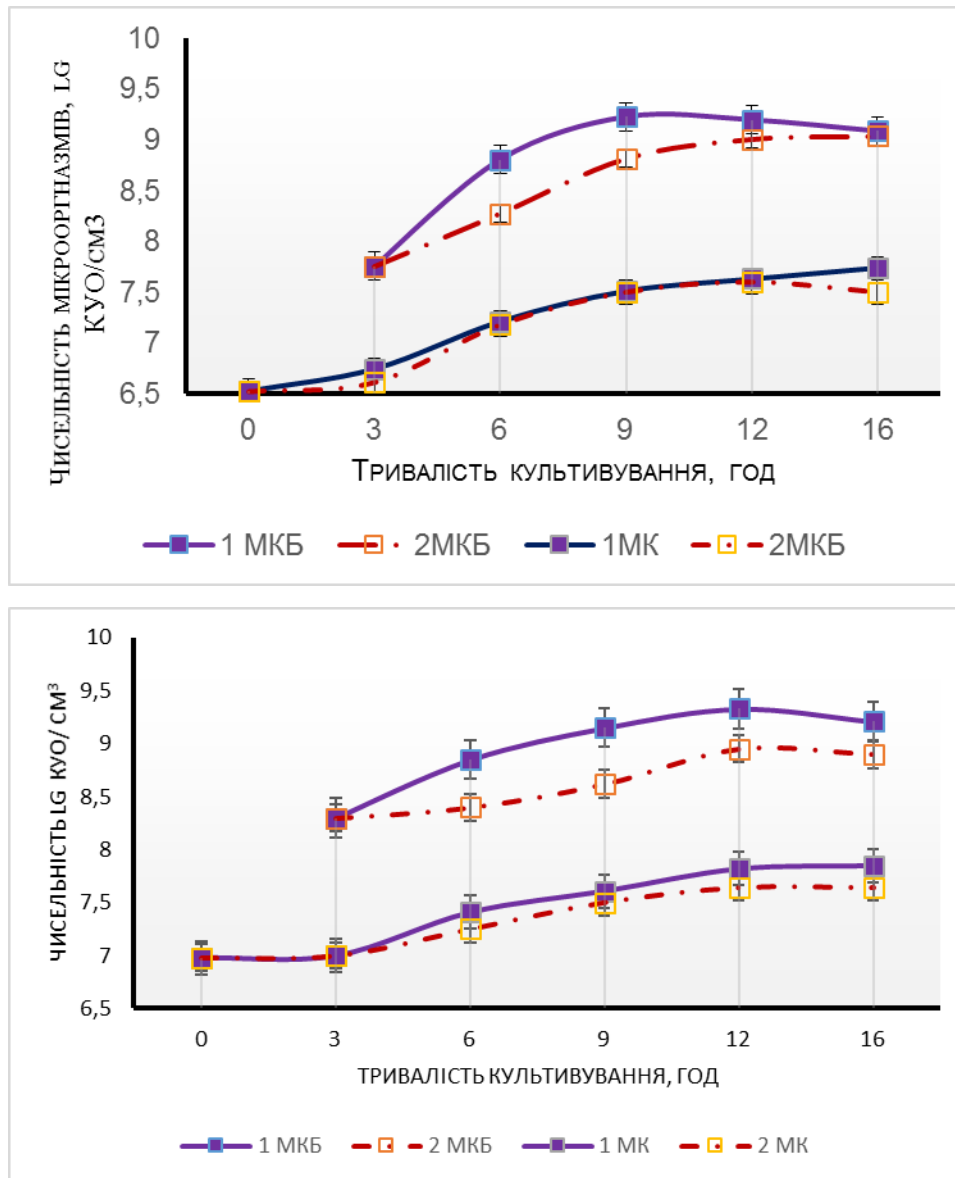


Рис. 9.11. Динаміка росту композиції “КПК” у поживних середовищах № 2 (а), № 3 (б) з періодичною нейтралізацією культуральної рідини та без неї. (МКБ – молочнокислі бактерії, МК – мікрококи, 1 – періодична нейтралізація культуральної рідини, 2 – без нейтралізації.)

Під час культивування композиції “КПК” у ПС № 2 без контролювання

pH, було зафіксовано найкоротшу фазу латентного періоду (T_l) для молочнокислих бактерій $T_l=0,17$ год, фаза логарифмічного росту наступала відразу після внесення інокуляту - від 3-ї до 6-ї культивування. В log-фазі вони росли з константою швидкістю поділу клітин (ν) та за весь термін культивування від 0,89 і 0,40 год⁻¹, відповідно (див. рис. 3.4. а). Тоді, як у середовищі № 3 відбулась затримка фази росту (T_l) для молочнокислих бактерій на 2,14 год і log-фаза була з 6-ї до 9-ї год культивування з меншою швидкістю поділу клітин 0,34 год⁻¹. У ПС № 2 молочнокислі бактерії композиції “КПК” вирізнялися найкоротшим терміном генерації клітин – у 2,6 рази меншим порівняно з показником у ПС № 3 та найвищою продуктивністю до $(1,5 \pm 0,1) \cdot 10^9$ КУО/см³ (табл. 9.8).

Загалом, молочнокислі бактерії росли впродовж 16 год зі швидкістю поділу клітин (ν) від 0,24 до 0,50 год⁻¹. Для них стаціонарна фаза наступала на 12 год культивування. За визначений термін композиція “КПК” мала найвищі показники росту у ПС № 2. Нагромадження біомаси КПК було на рівні 3,25 мг/см³, що у 1,2 рази більше порівняно до концентрації біомаси, відповідно у ПС № 3.

У дослідних середовищах тривалість фази латентного періоду (T_l) для мікрококів *K. rosea* 5400 композиції “КПК” розрізнялась неістотно і коливалась від 2,1 до 2,67 год. Фаза логарифмічного росту тривала від 6-ї до 9-ї год культивування зі швидкістю поділу клітин $\nu_{\max} - (0,18-0,28)$ год⁻¹ (див. рис. 9.11 а-в, табл. 9.8). Термін генерації (g) становив 2,50-3,57 год. Максимальна чисельність клітин культури *K. rosea* за визначений термін була $4,2 \div 4,5 \cdot 10^7$ КУО/см³.

Основні параметри росту композиції “КПК”

Середовища	Умови культивування	Компоненти ЗК	X , КУО/см ³	$v_{\text{макс}}$, год ⁻¹	v , год ⁻¹	T_b , год	g , год
ПС № 2	без корегування рН	МКБ	$(1,5 \pm 0,1) \cdot 10^9$	0,89	0,50	0,17	1,12
		МК	$(4,2 \pm 0,2) \cdot 10^7$	0,40	0,28	2,10	2,50
	з періодичною нейтралізацією	МКБ	$(2,3 \pm 0,2) \cdot 10^9$	0,91	0,52	0	1,10
		МК	$(5,8 \pm 0,2) \cdot 10^7$	0,42	0,29	1,40	2,38
ПС № 3	без корегування рН	МКБ	$(9,1 \pm 0,1) \cdot 10^8$	0,34	0,24	2,14	2,94
		МК	$(4,5 \pm 0,2) \cdot 10^7$	0,28	0,18	2,67	3,57
	з періодичною нейтралізацією	МКБ	$(1,9 \pm 0,3) \cdot 10^9$	0,64	0,35	0	1,56
		МК	$(5,3 \pm 0,1) \cdot 10^7$	0,40	0,21	2,54	2,5

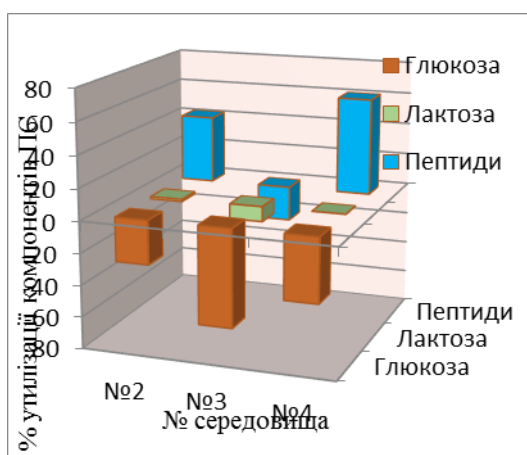
Основні фази розвитку композиції “КПК” істотно розрізнялися за умов періодичної нейтралізації культуральної рідини в усіх дослідних середовищах. Зокрема, для молочнокислих бактерій у ПС № 2 та ПС № 3 прискорився термін генерації на (2– 47) %, зросла константа швидкості поділу клітин (v) у (1,0-1,5) рази та урожайність до $(1,9 \div 2,3) \cdot 10^9$ КУО/см³. Щодо іншого компоненту композиції “КПК”, то спостерігали аналогічне прискорення розвитку мікрококів завдяки застосованим умовам культивування. У них також скоротився термін генерації клітин на (5 – 30) %, підвищилась константа швидкості поділу клітин (v) в (1,0 - 1,2) рази та урожайність до $(5,3 \div 5,8) \cdot 10^7$ КУО/см³ (див. табл. 9.8). Необхідно відзначити, що стабілізація рН культуральної рідини у цих дослідах підвищила

швидкість поділу клітин (ν) композиції “КПК” в цілому у (1,1-1,5) рази порівняно з варіантом без контролю рН (див. рис. 9.10).

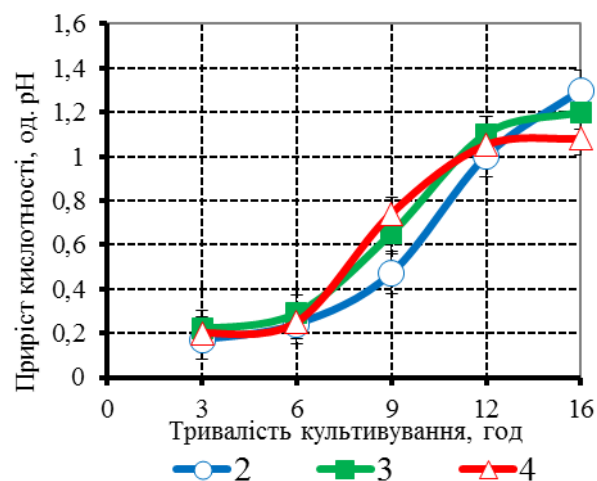
Найліпші результати досягалися в разі застосування середовища № 2, яке обумовлювало достатній розвиток як молочнокислих, так і мікрококів, та давало змогу отримати доволі високий вихід біомаси (урожайність – 3,31 мг/см³).

Таким чином, поживне середовище № 2 є рекомендованим для нагромадження бактеріальної маси композиції “КПК”, економічний ефект якого становить $Y = 0,06$.

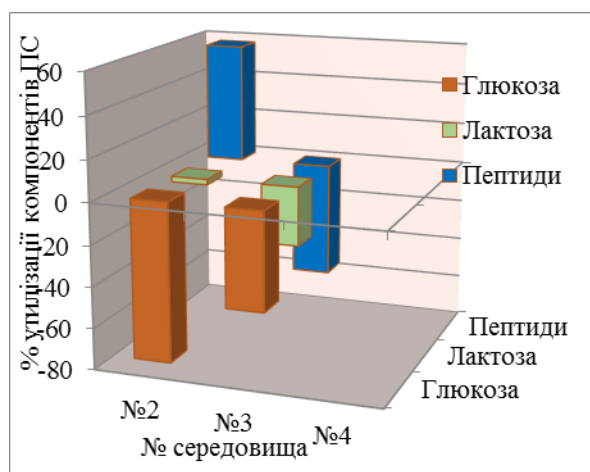
Одночасно було досліджено зміну біохімічного складу поживних середовищ при культивуванні обох дослідних композицій, результати яких представлено на рис. 9.12.



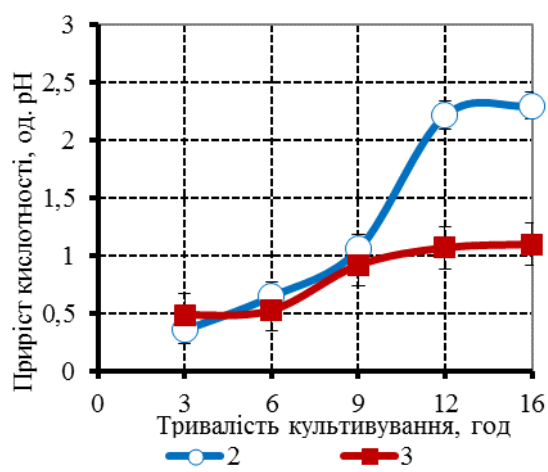
а



б



в



г

Рис. 9.12. Зміна складу поживних середовищ № 2-4 та приросту кислотності упродовж культивування композицій “ЛРР”(а, б) “КПК” (в, г).

Вивчення споживання вуглеводів у середовищах композиціями “ЛРР” та “КПК” показало, що молочнокислі бактерії під час культивування інтенсивніше гідролізували глюкозу та біля 29 % внесеної кількості лактози.

Вміст лактози під час культивування композиції “ЛРР” у ПС № 2 та № 3 залишався майже на вихідному рівні (зниження лише на (1,4-9,5) % порівняно з початковою концентрацією), в той час як глюкози в усіх ПС зменшувався у межах від 28 % до 62 % (див. рис. 9.12 а). Інтенсивніше цей процес відбувався у середовищі № 3.

Щодо композиції “КПК”, то у ПС № 2 глюкозу споживала інтенсивніше на 30 %, ніж у ПС № 3. Упродовж культивування композиції вміст лактози залишався на одному рівні у ПС №2, та зменшився на 29 % у ПС № 3.

Загалом, інтенсивність використання вуглеводного компоненту корелювала зі збільшенням чисельності бактерій та збільшенням приросту кислотності.

Встановлено тісний зв'язок між показниками активної кислотності культурального середовища та інтенсивністю споживання вуглеводного компоненту (рис 9.12 б). Коефіцієнти кореляції склали для композиції “ЛРР” в усіх ПС $r=0,90 - 0,98$ ($n=8$; $P<0,05$) та для “КПК” $r=0,84-0,94$ ($n=8$; $P<0,05$). Це свідчило про нормальний перебіг молочнокислого бродіння.

З метою збільшення біомаси заквашувальної композиції “ЛРР” та “КПК” було прийнято рішення вилучити із середовища лактозу та вносити подвійну частку глюкози.

Дослідження гідролізу коротколанцюгових пептидів композиції “ЛРР” показало, що порівняно з початковим вмістом у ПС № 3 їхня кількість зменшувалась на 22 % під дією протеолітичних ферментів мікроорганізмів. На 16 год культивування композиції “ЛРР” у ПС № 2 та № 4 кількість фракції пептидів збільшилась порівняно до контролю на 42 % та 61 %, відповідно, можливо за рахунок протеолізу залишкового білку у

м'ясопептонному бульйоні (див. рис. 9.12). Аналогічну тенденцію спостерігали у композиції “КПК”, а саме, у середовищі № 2 нагромаджуються пептиди на 58 %, та споживаються на 55 % у ПС № 3 порівняно з початковим вмістом.

Визначення пептидазної активності показало, що кількість джерел азоту у середовищах є цілком достатньою у ПС № 2 при культивуванні заквашувальні композиції “КПК”, та ПС № 3 для “ЛРР”.

Дослідження розвитку мікрококів як компонентів заквашувальних композицій, показало недоречність періодичної нейтралізації культуральної рідини, оскільки швидкість росту та приріст біомаси був незначним за 16 год (див. рис. 9.10 та 9.11).

Наступна робота була спрямована на з'ясування їхньої поведінки під час спільного культивування у відібраному поживному середовищі (ПС). Було застосовано інший ніж для МКБ підхід для його ефективного культивування, а саме: додаткову аерацію середовища інтенсивним перемішуванням (частота обертів 100 об/хв) [320].

Для підвищення приросту біомаси компонентів композиції було застосовано постадійне внесення вуглеводу. Спочатку в поживне середовище вносили половину загальної кількості глюкози (1 %) та культивували лактобактерії до повного вичерпання цього вуглеводу. Це відбувалося на 10-11 год росту – вміст глюкози контролювали методом вискоефективної рідинної хроматографії. Далі додавали решту цього вуглеводу (1 %) та продовжували процес культивування. Постадійне внесення глюкози дало змогу підвищити вихід біомаси на 5-6 %.

Отже, було встановлено, що поживне середовище № 2 та № 3 забезпечувало активний ріст як молочнокислих бактерій, так і мікрококів, що входять до складу композиції “КПК” та “ЛРР”, відповідно. Отримані результати показали значний біотехнологічний потенціал відібраних культур, що можуть забезпечити стабільність перебігу технологічного процесу

виробництва бактеріального препарату. Біотехнологію одержання бактеріального препарату “КПК” захищено патентом Додаток Е.3.

9.4. Одержання бактеріальних концентратів у напівпромислових умовах та вивчення їх властивостей

Апробацію режимів та умов виробництва препарату здійснювали на пілотній установці відділу біотехнології ІПР та на базі Державного дослідного підприємства Інституту продовольчих ресурсів НААН (Додаток Д. 2-Д. 3).

Технологічний процес виробництва бакпрепаратів складається із таких операцій:

- приготування поживного середовища для нагромадження біомаси;
- приготування посівного матеріалу (інокуляту) та його внесення в поживне середовище;
- нагромадження біомаси, охолодження;
- відокремлення бактеріальної маси від культурального середовища;
- змішування бактеріальної маси з захисним середовищем;
- заморожування, сушіння суспензії клітин, подрібнення бакконцентрату;
- змішування сухого бакконцентрату з наповнювачем;
- контроль якості бакпрепарату.

Апаратурно- технологічна схема представлена в додатку Д. 5.

Базуючись на даних лабораторних досліджень було проведено опрацювання у напівпромислових умовах усіх стадій технологічного процесу отримання бактеріальних препаратів прямого внесення для виробництва ферментованих суцільном’язових м’ясних продуктів.

Кількість посівного матеріалу для бактеріального препарату “ЛРР” становила 6 % від об’єму поживного середовища за співвідношення між штамми *L. rhamnosus* 3305, *L. rhamnosus* 3304, *Kocuria rosea* 5401 - 2:2:2. Для бактеріального препарату “КПК” – також 6 % за співвідношеннями між

штамами *L. casei* 3321, *L. casei* 3322, *L. plantarum* 3201, *Kocuria rosea* 5400–1:1:2:2.

Процес нагромадження біомаси вели у періодичному режимі за температури $(32 \pm 1)^\circ\text{C}$ упродовж $(14 \pm 0,5)$ год, застосовуючи метод постадійного внесення посівного матеріалу (див. розділ 3.1.2).

Активну кислотність культуральної рідини підтримували на рівні (6,5–6,6) од. рН за інтенсивного перемішування. Посівний матеріал складників композиції вирощували за температури $(32 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Для промислового виготовлення бактеріального препарату “ЛРР” використовували поживне середовище № 3, яке забезпечувало розвиток всіх складників заквашувальної композиції. Поживне середовище готували на молочній основі (1 % СЗМ). До його складу додатково вносили 1 % пептону, 0,5 % оцтовокислого натрію, 1,0 % тризаміщеного лимоннокислого натрію, 0,02 % сірчанонокислого магнію 7-водного, 0,05 % сірчанонокислого марганцю 4-водного, 0,001 % сірчанонокислого 7-водного заліза, 0,5 % хлористого натрію, 0,1 % твіну 80 як піногасника, 2 % дріжджового автолізу, 2 % глюкози, 0,05 % аскорбінової кислоти як антиоксиданта та 0,2 % фосфорнокислого двозаміщеного калію. Відмінністю приготування середовища було те, що вуглевод, аскорбінову кислоту, сіль фосфорнокислого двозаміщеного калію, а також дріжджовий автолізат, який готують згідно із загально прийнятою методикою, вносили до охолодженої основи у вигляді попередньо стерилізованих розчинів.

Після розчинення компонентів в основі встановлювали $(8,5 \pm 0,05)$ додаванням 25%-ного водного розчину аміаку, стерилізували за температури $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ упродовж $(30,0 \pm 0,1)$ хв і охолоджували до температури $(50 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Для промислового виготовлення бактеріального препарату “КПК” використовували поживне середовище № 2. Поживне середовище готували на воді з додаванням 0,5 % пептону, 0,5 % оцтовокислого натрію, 1,0 % тризаміщеного лимоннокислого натрію, 0,05 % сірчанонокислого магнію 7-водного, 0,01 % сірчанонокислого марганцю 4-водного, 0,001 % сірчанонокислого

7-водного заліза, 0,5 % хлористого натрію, 0,1 % твіну 80 як піногасника, 2 % дріжджового автолізу, 0,6 % сухого поживного бульйону, 2 % глюкози, 0,0005 % вітаміну B₁₂, 0,1 % фосфорнокислого двозаміщеного калію, 0,1 % фосфорнокислого однозаміщеного амонію. Особливістю приготування середовища було те, що вуглевод, вітамін B₁₂, солі фосфорнокислого двозаміщеного калію та фосфорнокислого однозаміщеного амонію, а також дріжджовий автолізат, вносили до охолодженої основи у вигляді попередньо стерилізованих розчинів.

Після розчинення компонентів в основі встановлювали рН (7,4±0,05) додавання 25%-ного водного розчину аміаку, стерилізували за температури (121±1) °C упродовж (30,0±0,1) хв і охолоджували до температури (50±1) °C.

У відповідне підготовлене середовище вносили свій посівний матеріал для нагромадження біомаси композицій “ЛРР” та “КПК”.

Інокуляти штамів молочнокислих бактерій готували внесенням добових бульйонних культур у кількості 5 % до об’єму поживного середовища MRS і наступного вирощування впродовж (22±2) год.

Інокуляти мікрококів можна готувати різними способами. Наразі при виробленні невеликих партій бактеріальних препаратів краще застосовувати спосіб, за яким клітини мікрококу вирощують на поверхні м’ясо-пептонного агару (МПА) у матрацах площиною близько 800 см² (бутилях типу PY) упродовж 46-48 год. При виробленні великих партій препарату – *K. rosea* 5401 вносили в кількості 5 % до об’єму поживного середовища МПБ і вирощували на качалках за 100 об/хв. упродовж 24 год.

Перебіг нагромадження біомаси у напівпромислових умовах істотно не відрізнявся від показників, отриманих у лабораторних дослідах.

Під час спільного росту молочнокислих бактерій з мікрококом за умов перемішування та періодичної нейтралізації культуральної рідини константа швидкості поділу клітин композиції “ЛРР” була більшою у 1,1-1,2 рази, ніж у цьому середовищі за стаціонарних умов. Для композиції “ЛРР” тривалість lag-фази (T_l) молочнокислих бактерій становила 2,19 год, а мікрококів – 2,82

год, і була коротша на 6 % та 32 %, відповідно, порівняно зі стаціонарними умовами (рис. 9.13, табл. 9.9).

Максимальну чисельність молочнокислих мікроорганізмів і мікрококу спостерігали на 14 год культивування: 9,8 і 8,3 lg КУО/см³, відповідно. Наступна година культивування характеризувалася постійним рівнем чисельності молочнокислих бактерій та мікрококів та від'ємними значеннями константи швидкості поділу клітин.

Завдяки постадійному внесенню інокуляту фаза експонентного росту молочнокислих бактерій збігалась з такою фазою мікрококів і тривала з 6 до 9 год культивування. У цей період константа швидкості поділу (ν) була найбільшою, як для молочнокислих бактерій, так і мікрококів, та становила $\nu = 1,03 \text{ год}^{-1}$ та $0,44 \text{ год}^{-1}$, відповідно (див. табл. 9.9). У період з 6 до 12 год константа швидкості поділу (ν) становила для молочнокислих бактерій, і мікрококів, $\nu = 0,87 \text{ год}^{-1}$ та $0,42 \text{ год}^{-1}$, відповідно.

За весь період культивування константа швидкості поділу клітин МКБ та МК склала $0,64 \text{ год}^{-1}$ та $0,27 \text{ год}^{-1}$, відповідно. Постадійне внесення інокуляту за умов перемішування та періодичної нейтралізації середовища також забезпечувало прискорення тривалості генерації клітин (g) молочнокислих бактерій та мікрококів на 18 % і 9 %, відповідно, порівняно зі стаціонарними умовами культивування. Як видно з рис. 9.12, після 14 годин культивування починалась стаціонарна фаза росту і тому процес нагромадження біомаси композиції “ЛРР” припиняли.

Для підвищення приросту біомаси компонентів композиції було застосовано двостадійний спосіб внесення глюкози, оскільки внесення глюкози разом із лактозою не дали повної утилізації вуглеводних компонентів (рис. 9.13). Спочатку в поживне середовище вносили половину загальної кількості глюкози (1 %) на 3 год від початку культивування разом з інокулятом молочнокислих бактерій, а решту (1 %) – через 7 год спільного росту всіх складників композиції.

Таблиця 9.9

**Основні параметри росту композицій “ЛРР” та
“КПК” за різних умов культивування**

Композиції, середовища	Умови культивування	Компоненти ЗК	X , КУО/см ³	$\nu_{\text{макс}}$, год ⁻¹	ν , год ⁻¹	T_b , год	g , год
ЛРР ПС № 3	стаціонарні умови, з періодичною нейтралізацією	МКБ	$(4,0 \pm 0,3) \cdot 10^9$	0,85	0,59	2,33	1,18
		МК	$(1,0 \pm 0,1) \cdot 10^8$	0,40	0,24	4,13	2,5
	з перемішуванням, з періодичною нейтралізацією	МКБ	$(6,8 \pm 0,1) \cdot 10^9$	1,03	0,64	2,19	0,97
		МК	$(2,2 \pm 0,1) \cdot 10^8$	0,44	0,27	2,82	2,27
КПК ПС № 2	стаціонарні умови, з періодичною нейтралізацією	МКБ	$(2,3 \pm 0,2) \cdot 10^9$	0,91	0,52	0	1,10
		МК	$(5,8 \pm 0,2) \cdot 10^7$	0,42	0,29	1,40	2,38
	з перемішуванням, з періодичною нейтралізацією	МКБ	$(3,0 \pm 0,2) \cdot 10^9$	0,95	0,56	0	1,05
		МК	$(7,6 \pm 0,2) \cdot 10^7$	0,44	0,30	1,19	2,27

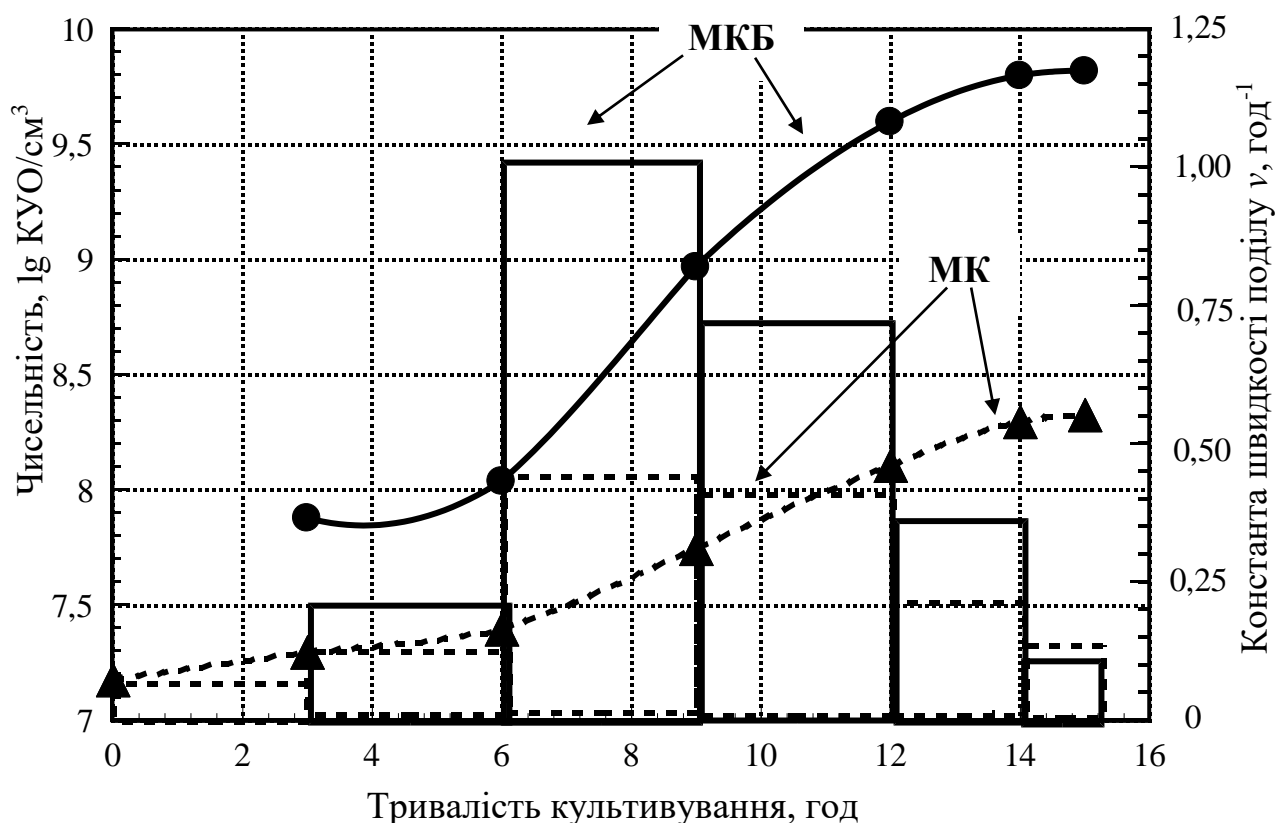


Рис. 9.12. Динаміка розвитку композиції “ЛРР” при культивуванні у поживному середовищі у напівпромислових умовах виробництва
МКБ – молочнокислі бактерії, МК – мікрококи.

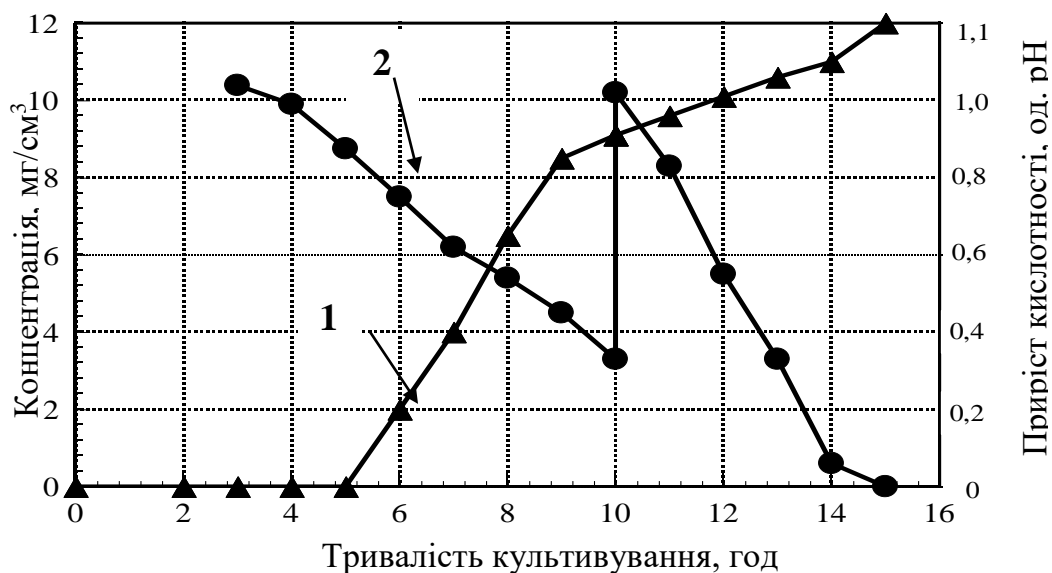


Рис. 9.13. Приріст кислотності (1) та споживання глюкози (2) композицією “ЛРР” у поживному середовищі.

Експериментально було встановлено, що першу нейтралізацію культурального середовища слід проводити через 6 год росту композиції,

доводячи рН культуральної рідини до 6,5-6,6 од. рН, а потім – через кожну годину. Максимальний приріст кислотності (Δ рН) та інтенсивне споживання глюкози встановлено в період активного росту від 6 до 14 годин культивування (див. рис. 9.13).

Це дозволило підвищити ефективність нагромадження біомаси композиції “ЛРР” майже в 2 рази та подовжити фазу активного росту на 3 год та забезпечити необхідне співвідношення між молочнокислими бактеріями та мікрококами 2:1, відповідно. За цей термін мікроорганізмами було утилізовано всю додану глюкозу (див. рис. 9.13).

Отже отримані результати свідчать, що тривалість процесу нагромадження біомаси композиції “ЛРР” не повинна перевищувати 15 годин. Біотехнологія отримання бактеріального препарату «КПК» захищена патентом на винахід Додаток Е.3.

Перебіг нагромадження біомаси композиції “КПК” досліджували на поживному середовищі № 2 у напівпромислових аналогічних умовах зі композицією “ЛРР” (рис. 9.14).

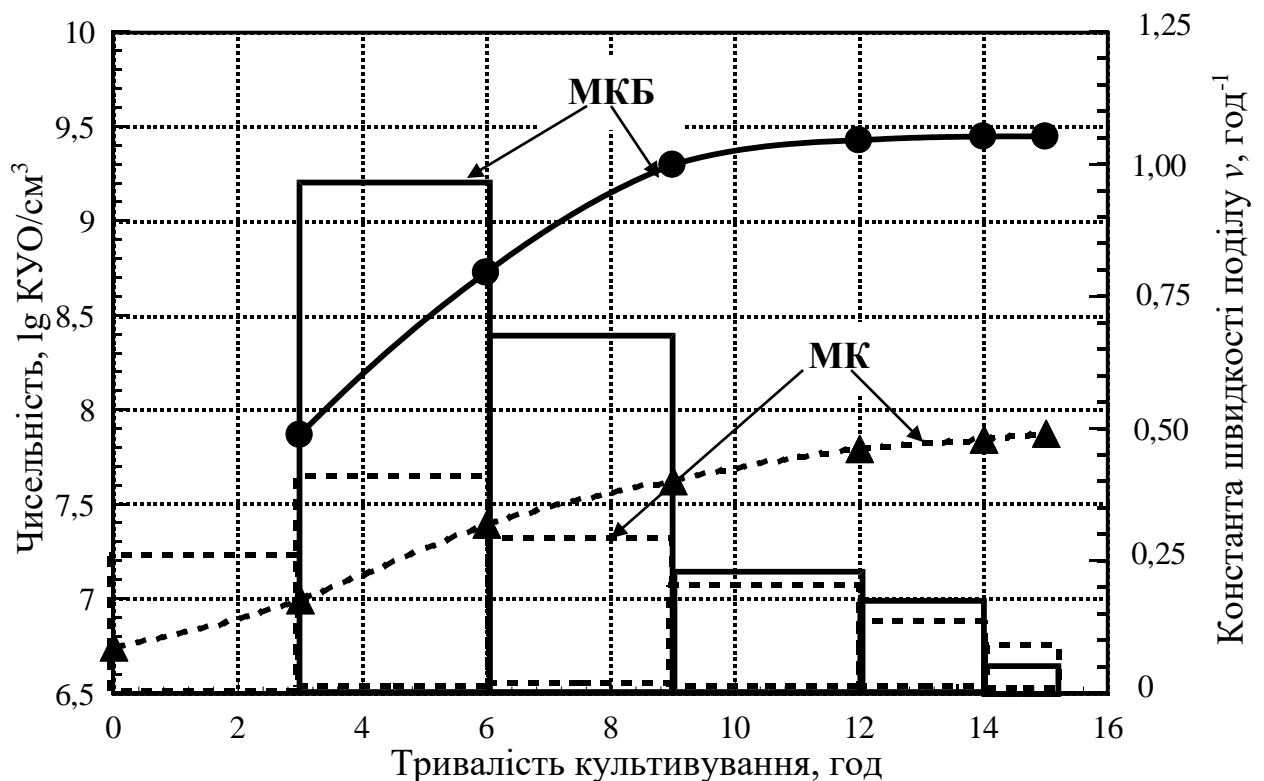


Рис. 9.14. Динаміка розвитку композиції “КПК” при культивуванні у поживному середовищі у напівпромислових умовах виробництва МКБ – молочнокислі бактерії, МК – мікрококи.

Під час спільного росту молочнокислих бактерій з мікрококом *K. rosea* за умов перемішування та періодичною нейтралізацією культуральної рідини константа швидкості поділу клітин композиції “КПК” була більшою у 1,0-1,1 рази, ніж у цьому середовищі за стаціонарних умов (див. табл. 9.9).

Упродовж культивування композиції “КПК” спостерігали відсутність фази латентного періоду (T_l) для молочнокислих бактерій, а для мікрококів становила 1,19 год і була коротша на 15 % порівняно зі стаціонарними умовами (див. рис. 9.14).

Фаза експонентного росту молочнокислих бактерій збігалась з такою фазою мікрококів завдяки постадійному внесенню інокуляту культивування і тривала з 3-ї до 6-ї год культивування. У цей період константа швидкості поділу (ν) була найбільшою, як для молочнокислих бактерій, так і мікрококів, та становила $\nu = 0,95$ та $0,56 \text{ год}^{-1}$, відповідно. З 3-ї до 9-ї год культивування константа швидкості поділу (ν) становила для молочнокислих бактерій і мікрококів $\nu = 0,79$ та $0,37 \text{ год}^{-1}$, відповідно.

За весь період культивування константа швидкості поділу клітин (ν) МКБ та МК склала $0,56 \text{ год}^{-1}$ та $0,30 \text{ год}^{-1}$, відповідно, із найбільшим приростом чисельності молочнокислих бактерій та мікрококів у 34,7 та 13,5 рази, відповідно. Прискорення тривалості генерації клітин (g) молочнокислих бактерій та мікрококів відбувалось швидше на 5 % за умов перемішування та періодичної нейтралізації середовища при постадійному внесенні інокуляту порівняно зі стаціонарними умовами культивування.

Зниження приросту чисельності як молочнокислих бактерій так і мікрококів композиції „КПК” відмічали через 12 годин культивування, а через 15 год спостерігали поступове відмирання клітин. Тому тривалість нарощування компонентів цієї заквашувальної комбінації не повинна перевищувати 14 годин.

Щоб підвищити ефективність нагромадження біомаси композиції “КПК”, застосовували опрацьований раніше двостадійний спосіб внесення глюкози.

На першій стадії глюкозу (1 %) вносили на 3 год від початку культивування разом з інокулятом молочнокислих бактерій, а решту (1 %) – через 6 год спільного росту всіх складників композиції.

Експериментально було встановлено, що першу нейтралізацію культурального середовища слід проводити через 3 год росту композиції, доводячи рН культуральної рідини до 6,5-6,6 од. рН, а потім – через кожну годину. Максимальний приріст кислотності (Δ рН) та інтенсивне споживання глюкози встановлено в період активного росту від 3 до 12 години культивування (рис. 3.9).

Це дозволило підвищити ефективність нагромадження біомаси майже в 2 рази та подовжити фазу активного росту на 3 год та забезпечити необхідне співвідношення між молочнокислими бактеріями та мікрококами 2:1, відповідно. За цей термін мікроорганізмами було утилізовано всю додану глюкозу (див. рис. 9.15).

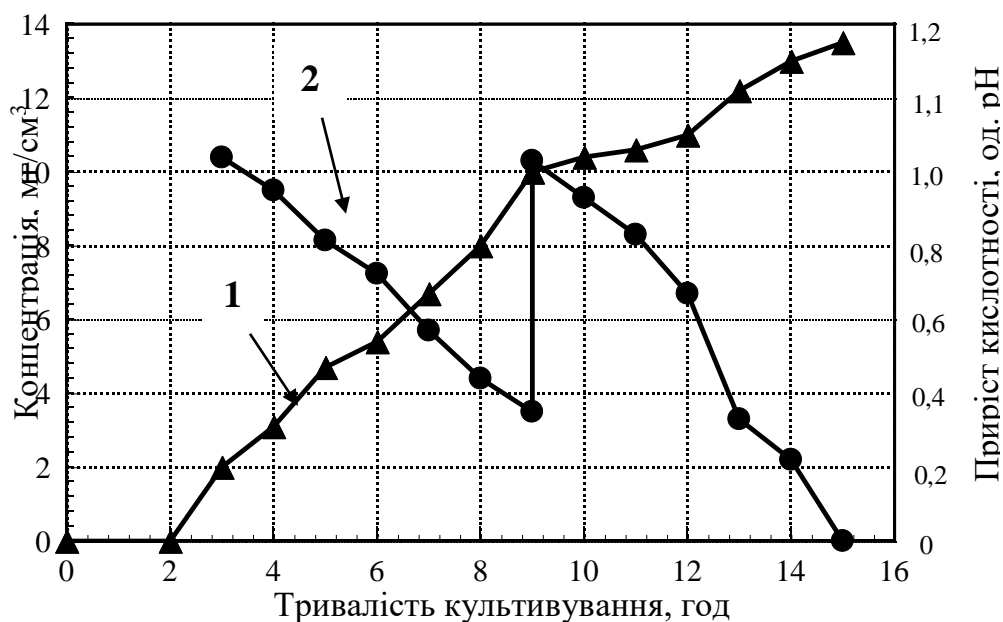


Рис. 9.15. Приріст кислотності (1) та споживання глюкози (2) композицією "КПК" у поживному середовищі.

Було встановлено, що композиція "КПК" споживала глюкозу в 2,1 рази інтенсивніше порівняно з одностадійним способом внесення глюкози. Отже, на приріст біомаси композиції впливала послідовність внесення як інокуляту, так і вуглеводу.

Таким чином, промисловий процес нагромадження біомаси композицій “ЛРР” та “КПК” повинен використовувати постадійне внесення посівного матеріалу, з двостадійним внесення вуглеводу, перемішуванням, урахуванням умов періодичної нейтралізації культуральної рідини, оптимальним співвідношення між штамами 2:2:2 та 1:1:2:2, відповідно, та кількістю інокуляту 6 %.

Після закінчення нарощування культуральну рідину охолоджували до температури (13 ± 1) °C. Відокремлення біомаси від культуральної рідини проводили центрифугуванням, бактеріальну масу з барабану центрифуги виймали в асептичних умовах у стерильну ємність. Вихід сирої біомаси композиції “ЛРР” та “КПК” становив близько 6,0-7,5 г/дм³ ростового середовища, з чисельністю клітин молочнокислих бактерій $1,0 \cdot 10^{11}$ КУО/г та мікрококу $1,0 \cdot 10^9$ КУО/г.

9.5. Підбір захисного середовища для культивування бактеріальних концентратів

Відомо, що бактеріальні препарати з метою збільшення терміну зберігання піддаються різним способам консервування. Найефективнішим способом є сублімаційне сушіння. При цьому досить м'якому способі, мікроорганізми піддаються впливу таких чинників, як низькі температури та зневоднення у вакуумі. При отриманні сухих бактеріальних препаратів для зниження негативної дії даних чинників застосовують різні захисні середовища (ЗС). Ці середовища підбираються за певними правилами, що забезпечують високу життєздатність бактерій та збереження їхніх біологічних властивостей. При цьому вибір захисного середовища визначається видами або навіть штамом мікроорганізмів.

Створені заквашувальні композиції містять мікроорганізми декількох таксономічних груп з різною стійкістю до режимів ліофілізації. Відомо, що мікрококи набагато ліпше переносять цю технологічну операцію, ніж

лактобактерії. Тому під час опрацювання режимів сушіння особливу увагу звертали на збереження чисельності та активності лактобактерій.

Для одержання сухих бактеріальних концентратів “ЛРР” та “КПК” було досліджено дію 6 ЗС на життєздатність бактеріальної маси упродовж ліофілізації. До складу ЗС залучали сполуки, які підвищували стійкість мікроорганізмів до заморожування та сушіння: білкові (СЗМ), та вуглеводні компоненти (цукроза, маніт, гліцерин), а також солі (натрій цитрат, магній сірчаноокислий, амоній фосфорноокислий однозаміщений) (табл. 9.10).

Таблиця 9.10

Склад захисних середовищ

Компоненти	Вміст компонентів у захисному середовищі, %					
	№1	№2	№3	№4	№5	№6
Сухе знежирене молоко (СЗМ)	10,0	3,0	-	5,0	-	
Цитрат натрію	0,2	-	-	5,0	2,0	5,0
Цукроза	1,0	-	35,0	15,0	10,0	25,0
MgSO ₄	0,05	-	-	-	-	-
Гліцерин	-	-	-	-	2,0	-
Фосфатний буфер, рН 6,86	-	10,0	-	-	-	-
Маніт	-	7,0	-	-	-	-
Глутамат натрію	-	-	-	-	-	2,5
Желатин	-	-	4,0	-	-	3,5
Вода	88,75	80,0	61,0	75,0	86,0-	64,0
Активна кислотність, од. рН	7,4	6,9	6,8	7,2	6,9	6,7

Було встановлено, що дослідні захисні середовища мали різну захисну дію щодо штамів заквашувальних композицій.

Молочнокислі бактерії композиції були чутливішими до заморожування та сублімаційного сушіння і втрачали від 2,1 % до 15,2 % життєздатних клітин. За таких умов кількість мікрококів у композиціях зменшувалась від 0,04 % до 20,9 % (див. табл. 9.11).

Молочнокислі бактерії композиції “ЛРР” та “КПК” були чутливішими до заморожування та сублімаційного сушіння і втрачали (2,1-15,2) % та (1,5-9,8) % життєздатних клітин, відповідно.

Кількість мікрококів у композиціях “ЛРР” та “КПК” зменшувалась на (3,2–15,6) % та (0,04-20,9) % відповідно (див. табл. 3.8). Для композицій “ЛРР” та “КПК” найвища захисна дія була притаманна у разі застосування ЗС № 3, № 4, № 6 та ЗС № 1, №4, № 6, відповідно. В них забезпечували найвищий рівень виживання клітин молочнокислих бактерій та мікрококу – близько 10^{11} та 10^9 КУО/см³, відповідно. Ці бактеріальні концентрати

Таблиця 9.11

Вплив захисних середовищ на якість сухих бактеріальних концентратів

Варіанти концентрату*	Ступінь виживання, %			Коеф. розчинності, см ³ сирого осаду
	МКБ	МК	Загальний	
Заквашувальна композиція “ЛРР”				
Концентрат 1	84,8	95,2	90,0	2,1±0,05
Концентрат 2	88,4	95,2	91,8	3,3±0,10
Концентрат 3	97,9	96,8	97,4	2,0±0,10
Концентрат 4	98,3	94,4	96,3	1,9±0,05
Концентрат 5	90,0	84,4	87,2	2,8±0,10
Концентрат 6	95,2	96,8	96,0	2,2±0,10
К	86,0	98,4	93,7	2,3±0,10
Заквашувальна композиція “КПК”				
Концентрат 1	98,5	99,9	99,2	1,9±0,05
Концентрат 2	90,2	79,1	84,7	3,3±0,10
Концентрат 3	97,5	83,4	90,5	2,2±0,10
Концентрат 4	93,9	99,9	96,8	2,0±0,05
Концентрат 5	92,4	98,5	95,3	2,7±0,10
Концентрат 6	98,0	99,7	98,9	2,1±0,10
К	87,0	95,4	91,4	2,3±0,10

Примітка. * Нумерація варіантів концентрату співпадає з нумерацією захисного середовища. Наведено середні значення; n=4, P≤0,05. К – концентрат без ЗС.

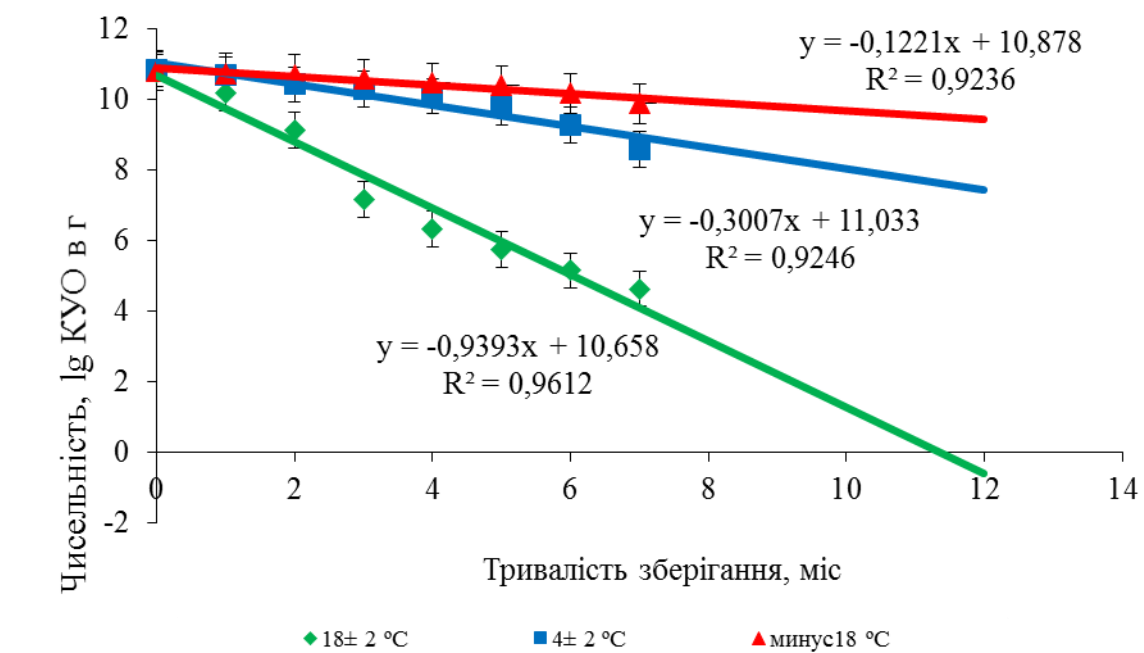
Отриману біомасу (Б) змішували з різними варіантами захисних середовищ у співвідношенні Б:ЗС, як 1:2.

Одержану суспензію бактеріальних клітин заморожували за температури мінус $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ упродовж 16-18 год. Сушили в сублімаційній сушарці ТГ 15 за таких режимів: температура на початку сушіння (мінус $25 \pm 2)^\circ\text{C}$, наприкінці – $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$; залишковий тиск - не більше 6,65 Па ($0,679 \text{ кгс/м}^2$); тривалість сушіння – 18-20 год. Якість отриманих варіантів бакконцентрату оцінювали за показниками виживання компонентів композиції після ліофілізації та коефіцієнтом розчинності (табл. 9.11).

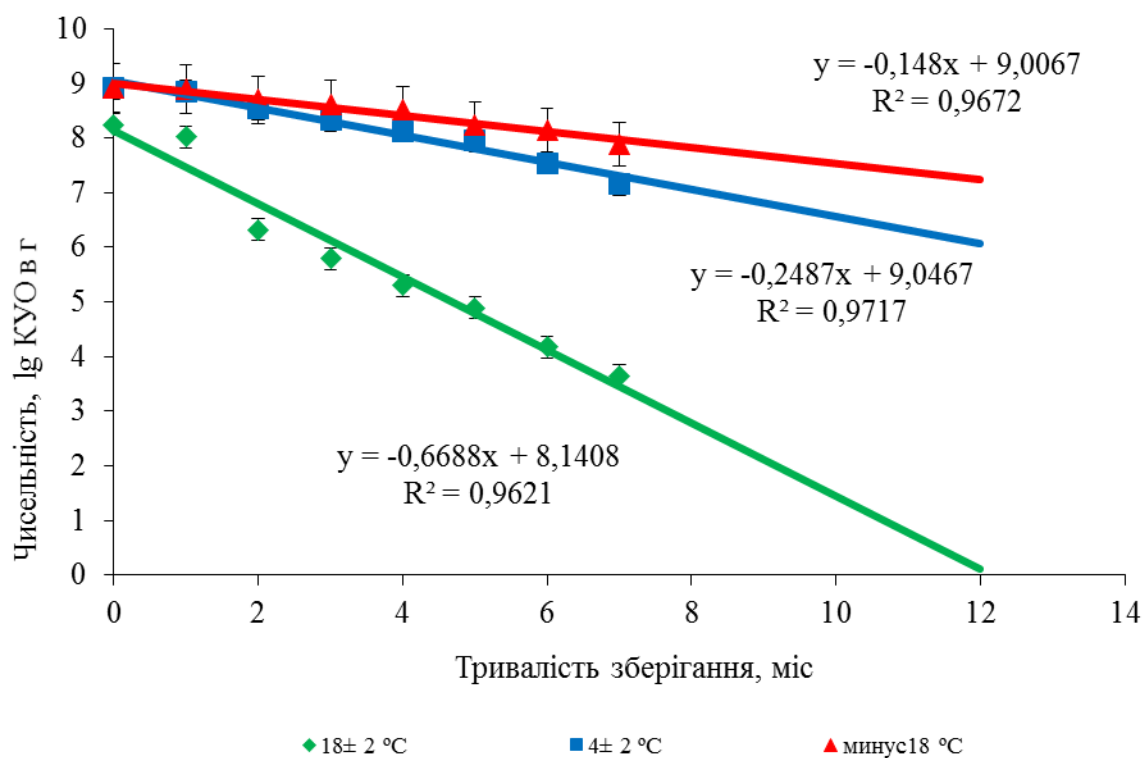
розчинялись інтенсивніше за контроль (концентрат без ЗС) у 1,2 рази. Бакконцентрати 2, 5 показали найгірші результати – їхній коефіцієнт розчинення був найвищим – $2,7\text{-}3,3 \text{ см}^3$ сирого осаду (див. табл. 4.9). Отже, для виробництва бактеріальних концентратів доцільно використовувати ЗС 1, 3, 4, та 6, які забезпечували виживання 96-99 % клітин композиції та належний рівень розчинності.

Загалом, результати цих досліджень показали відсутність яких-небудь істотних розбіжностей у протекторній дії. Але перевагу слід надати захисним середовищам № 3 та № 1 для композицій “ЛРР” та “КПК”, відповідно, які забезпечують одержання бакпрепаратів з низьким індексом розчинності ($1,9\text{-}2,0 \text{ см}^3$ сирого осаду) та обумовлюють ступінь виживання мікроорганізмів композиції більш ніж 97 %.

Дослідження здатності до зберігання активної мікробіоти у готовому препараті показало наступні закономірності: важливим фактором, що визначає ступінь виживання бактерій є дотримання температурного режиму (рис 9.16) та суворий контроль вмісту вологи у продукті.



а)



б)

Рис. 9.16. Зміна кількості клітин МКБ (а) та мікрококів (б) у процесі зберігання за різних температур

За допомогою цих закономірностей були отримані рівняння лінійної залежності швидкості відмирання клітин МКБ та мікрококу в процесі

зберігання за різних температур. Було встановлено коефіцієнт, який характеризує швидкість відмирання клітин - величина k

Найстійкішими до зберігання за температури $(18 \pm 2)^\circ\text{C}$ виявилися мікрококи коефіцієнт відмирання котрих склав $k = 0,73$.

Стійкими до зберігання були всі культури за температури мінус $(18 \pm 2)^\circ\text{C}$ – $k = 0,95-0,96$, зберігання за температури $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ цих композицій була також високою - $k = 0,91$.

Дослідження здатності препаратів “ЛЛР”, “КПК” до зберігання показало, що впродовж 6 місяців за температури мінус $(18 \pm 2)^\circ\text{C}$ чисельність МКБ зменшилась менше ніж на 6,5 %, мікрококу - 9,0%, (табл.9.12).

Таблиця 9.12

Здатність до зберігання препаратів

Термін зберігання	“ЛЛР” та “КПК”		
	Кількість МКБ, КУО/г	Мікрокок, КУО/г	БГКП, г
1	2	3	4
за температури (18±2)°C			
Свіжовироблений	(5,4-6,7)·10 ¹⁰	(7,9- 8,2)·10 ⁸	Відсутні у 1 г
1 місяці	(3,2-4,1)·10 ¹⁰	(8,0-7,4)·10 ⁸	
2 місяці	(1,43-1,37)·10 ⁹	(6,2-5,4)·10 ⁷	
за температури (4±2)°C			
3 місяці	(3,2-4,7)·10 ¹⁰	(7,0-6,4)·10 ⁸	Відсутні у 1 г
4 місяці	(2,7-1,2)·10 ¹⁰	(4,8-3,2)·10 ⁸	
5 місяців	(7,7-8,1)·10 ⁹	(8,4-9,2)·10 ⁷	
за температури мінус (18±2)°C			
4 місяці	(5,5-7,6)·10 ¹⁰	(7,1- 8,3)·10 ⁸	Відсутні у 1 г
6 місяців	(1,5-2,8)·10 ¹⁰	(3,2-2,8)·10 ⁸	
7 місяців	(8,8-9,2)·10 ⁹	(8,6-8,8)·10 ⁷	

Це дозволило визначити гарантований термін придатності до використання препарату:

- за температури $(4\pm 2)^\circ\text{C}$ – не більше 4 місяців із дати виробництва;
- за температури $(18\pm 2)^\circ\text{C}$ – не більше 1 місяців із дати виробництва;
- за температури мінус $(18\pm 2)^\circ\text{C}$ – не більше 6 місяців із дати виробництва.

Оптимальними результатами зберігання прийнято температуру від мінус 18 до мінус 20°C , термін зберігання – 6 місяців, масова частка води не більше 5%. За весь період зберігання не спостерігалось випадків контамінації продукту сторонньою мікробіотою.

Зберігання сухого препарату за температури мінус $8 - 10^\circ\text{C}$, показало, що відмирання клітин у всіх варіантах протягом перших трьох місяців проходило в межах 5-6%, а за нижчих температур мінус $(18\pm 2)^\circ\text{C}$ – 2-4%. Через 6 місяців зберігання за $(8\pm 2)^\circ\text{C}$ і через 12 місяців за мінус $(18\pm 2)^\circ\text{C}$ відмирало 7-9 % бактеріальних клітин.

Зберігання препарату протягом 6 місяців за температури $(8\pm 2)^\circ\text{C}$ не спричинило негативної дії на його властивості.

Характеристику готового бактеріального препарату “ЛРР”, отриманого за наведеною вище технологією, подано в табл. 9.13 (Додаток Д.4.)

Препарат “ЛРР” та “КПК” – це однорідний порошок кремового кольору без запаху з масовою часткою води 5 %. Чисельність молочнокислих мікроорганізмів та мікрококу складає $1,0\cdot 10^{10}$ КУО/г та $1,0\cdot 10^8$ КУО/г, відповідно. Санітарно-показова мікробіота: БГКП, *S. aureus*, сальмонели, дріжджі та пліснява відсутня.

Спосіб консервування біомаси заквашувальних культур захищено патентом (Додаток Е.5) Отримані дані опубліковані у роботі [167, 239].

Таблиця 9.13

Мікробіологічні та фізико-хімічні показники бактеріального препарату “ЛРР” та “КПК”

Назва показника	Норми
Кількість молочнокислих бактерій, КУО/г, не менше:	$1,0 \cdot 10^{10}$
Кількість мікрококу, КУО/г, не менше	$1,0 \cdot 10^8$
БГКП (коліформи), в 1 г	відсутні
Дріжджі та плісняви, в 1 г	відсутні
<i>Staphylococcus aureus</i> , в 1 г	відсутній
Патогенні мікроорганізми в т.ч. роду Сальмонела в 10 г	Не допускаються
Мікроскопічний препарат	Тонкі палички різної довжини поодинокі та в коротких ланцюжках, коки поодинокі та скупченнями
Масова частка води, %	5
Розчинність препарату, см ³ сирого осаду	$0,5 \pm 0,1$

На підставі одержаних результатів було розроблено та затверджено нормативні документи на виробництво бак препаратів для ферментування м'ясної сировини (ТУ У 15.5-00419880-10-2010) – Додаток Г. 3.

Висновки до розділу 9

1. Досліджено взаємовідносини між штамами пропіоново-, молочнокислих бактерій, мікрококами та стафілококами у 182 бінарних комбінаціях та показано, що 15 % комбінацій мали взаємне стимулювання (синергізм), 62 % – характеризувались коменсалізмом та 23 % комбінацій проявляли активний антагонізм.

2. Відібрано 19 активних двокомпонентних комбінацій на основі яких створено 4 трьохкомпонентні, 8 чотирьохкомпонентні та 1 п'ятикомпонентну заквашувальні композиції. Встановлено оптимальне співвідношення між складниками цих композицій яке забезпечує максимальний прояв антагоністичної активності щодо спонтанної та санітарно-показової м'яса.

3. Опрацьовано технологічні параметри композицій, а саме: продуктивність, вміст вільних амінокислот, нітритредуквальна активність. Було відібрано 2 високопродуктивні заквашувальні композиції

молочнокислих бактерій з мікрококами та 2 композиції зі стафілококами та пропіоновокислими бактеріями.

4. Відібрані заквашувальні композиції відновлювали нітрит у культуральному середовищі на 70-83%, характеризувались високим рівнем протеолізу та зростанням сумарної кількості вільних амінокислот на 15 %. Для цих композицій спостерігали взаємне стимулювання складників, чисельність МКБ зростала – у 4,3–6,5 разів та мікрококів і стафілококів – у 7,7–28,6 разів.

5. Розроблено нормативна документація на виробництво та застосування бактеріального препарату “ЛРР” для виробництва сиров’ялених суцільном’язових продуктів із м’яса птиці” та бактеріального препарату “КПК” для виробництва сиров’ялених та сирокочених ферментованих м’ясних продуктів із свинини та яловичини.

РОЗДІЛ 10

ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ БАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ “ЛРР” та “КПК” ПІД ЧАС ФЕРМЕНТУВАННЯ М'ЯСНОЇ СИРОВИНИ

Один з актуальних шляхів вирішення проблеми по розробці технологій м'ясних продуктів пов'язаний з біотехнологічним принципом модифікації м'ясної сировини - спрямованим регулюванням перебігом біотехнологічних, фізико-хімічних і мікробіологічних процесів, в результаті яких формується структура, колір і смако-ароматичні характеристики готового продукту. Перспективним напрямком є створення і використання для виробництва м'ясних продуктів бактеріальних препаратів на основі життєздатних мікроорганізмів.

На попередніх етапах було розроблено бактеріальний препарат “Лакмік”, який рекомендовано для виробництва сиров'ялених та сиркопчених ковбас [164].

Доведено, що ферментовані ковбаси мають ліпшу якість, що обумовлено дією заквашувальної культури. Нітритредукуючі мікроорганізми *Micrococcus*, які залучено до складу препарату “Лакмік”, забезпечують яскраве забарвлення продукту та гарантують низький залишковий вміст нітриту натрію до 0,003 %, що відповідає вимогам ДСТУ 4427:2005 “Ковбаси сиркопчені та сиров'ялені”. Показано, що ковбаса, виготовлена зі застосуванням препарату “Лакмік”, характеризується високим вмістом вільних амінокислот та смако-ароматичних сполук [164].

Визначено, що у продукті з бакпрепаратом “Лакмік” окислювання жирів відбувається менш інтенсивно порівняно з контрольним зразком. Це пояснюється наявністю високої каталазної активності у селекціонованих мікрококів, завдяки чому знижується ризик знебарвлення та уповільнюється процес прогрівання жиру [164].

Доведено, що сиров'ялений суцільном'язовий продукт із м'яса птиці,

виготовлений із застосуванням бактеріального препарату “ЛРР” є найбільш вдалим за мікробіологічними, фізико-хімічними, біохімічними та органолептичними характеристиками. Встановлено, що найбільший приріст молочнокислих бактерій (у 28,2 рази) та відсутність БГКП, інтенсивніше зниження масової частки вологи до вмісту 38,9 % та показників активності води до 0,813 і рН до – 5,65, спостерігали на 18 добу. Додавання БП до сировини стимулювало зменшення a_w , рівня рН та масової частки вологи у готовому продукті відносно контролю. Досліджено, що функціонуванням мікробіоти бактеріального препарату впливає на якісний та кількісний вміст вільних амінокислот [165, 174, 266].

Також нами показано вплив бактеріального препарату “МКС” на протеоліз у сиров’ялених цільном’язових продуктах зі свинини та яловичини. Для готових баликів з «МКС» зафіксоване зростання кількості небілкового азоту і відповідне нагромадження вільних амінокислот, у т. ч. незамінних; для варіанта з яловичини вміст вільних амінокислот – 690,8 мг/100 г сух. речовин [33].

10.1 Функціонування новостворених бактеріальних препаратів “КПК” та “ЛРР” у м’ясній сировині за посолу

Попередній посол м’ясної сировини - обов'язкова технологічна операція у виробництві ферментованих м'ясних виробів. Завдяки цій технологічній операції можна спрямовано регулювати технологічні властивості сировини для забезпечення оптимальних умов формування якісних характеристик готових виробів, оскільки посол - це дифузійно-осмотичний процес, в якому швидкість проникнення солі залежить від якості сировини, виду посолу і температури.

В цьому аспекті маловивченим і важливим напрямом досліджень є аналіз динаміки зміни якісного та кількісного складу мікробіоти, розвитку хімічних і ферментативних процесів з утворенням смако-ароматичних речовин, а

також аналіз функціонально-технологічних характеристик м'ясної сировини за посолу.

10.1.1 Вплив препарату “КПК” та “ЛРР” на спонтанну мікробіоту за посолу м'ясної сировини

У лабораторних умовах було досліджено функціонування бактеріальних препаратів, до складу яких входять молочнокислі бактерії видів *Lactobacillus casei*, *L. plantarum*, мікрококи видів *Kocuria varians* (*M. varians*) та *Kocuria rosea* (*M. roseus*) у м'ясній сировині, яку готували відповідно до рецептури на сиров'ялений балик зі свинини.

Дослідні варіанти свинини обробляли заквашувальними композиціями разом з посолочною сумішшю за наступною схемою. Варіант 1 заквашували композицією “ЛРР”: *L. rhamnosus* 3304, *L. rhamnosus* 3305 та *Kocuria rosea* (*M. roseus*) 5401; варіант 2 – “Лакмік”: *L. casei* 3302 + *L. rhamnosus* 3303 + *L. plantarum* 3200 + *M. varians* 5200; варіант 3 – “КПК” *L. casei* 3321 + *L. casei* 3322 + *L. plantarum* 3201 + *Kocuria rosea* (*M. roseus*) 5400.

Експериментально було встановлено, що масова частка солі на кінець посолу не повинна перевищувати 2,9-3,1 %. Ця концентрація досягається при додаванні 3 % солі до маси сировини за 72 години посолу [175].

Було визначено мікробіологічну та біохімічну активності цих композицій. Як контроль використовували спинну та поперекову м'язеву тканину свинини без додавання культур.

Сухі препарати вносили в кількості 0,3 % до об'єму сировини. Охолоджену сировину натирали 3,5 % посолочною сумішшю до маси сировини, яка складалася із 95 % солі та 5 % цукру та 0,75 % нітриту натрію.

Підготовлену у такий спосіб сировину витримували у холодильній камері за температури (2-4) °С упродовж 3 діб. Після закінчення посолу м'ясо злегка обмивали холодною водою і підсушували на ґратці упродовж 2-3 годин, потім свинину піддавали сушінню упродовж 5 діб за температури (12-15) °С. Тривалість усього технологічного процесу складала 9 діб.

На усіх стадіях технологічного процесу - після оброблення сіллю, після процесу соління, після визрівання та сушіння на 2, 5 добу досліджували динаміку чисельності молочнокислих, кількість мікрококів, кількість дріжджів та плісняви та бактерій групи кишкової палички БГКП.

Аналіз мікробіоти упродовж посолу показав, що в усіх дослідних варіантах безперервні кількісні та якісні зміни її складу (рис. 10.1).

Початкова контамінація м'ясної сировини складала 4,7 lg КУО/г. Спонтанна мікробіота була представлена переважно МКБ, каталазопозитивними коками, дріжджами, спороутворювальними бактеріями, грамнегативними паличками. Слід зазначити, що коагулазопозитивні стафілококи, сальмонели та *L. monocytogenes*, були відсутні як у сировині, так і впродовж всього посолу.

Додавання бактеріальних препаратів забезпечувало необхідний рівень кількості МКБ. У всіх дослідних зразках з бактеріальними препаратами після введення розсолу в м'ясо спостерігалось різке збільшення молочнокислих бактерій. Під час сушіння у зразках кількість МКБ знизилась, але не істотно, і на кінець сушіння знаходилась на достатньо високому рівні. Такий результат пояснюється певними технологічними факторами і біохімічними процесами у м'ясній сировині. Так, кількість вологи під час сушіння поступово зменшується, а концентрація солі зростає. Водночас відбувається перерозподіл вологи: більша частина вологи переходить у зв'язаний стан. Як результат умови для розвитку мікроорганізмів погіршуються [303].

Кількість життєздатних молочнокислих бактерій на початку ферментації у дослідному варіанті (з препаратом КПК) була на два порядки вище, ніж у контрольному варіанті і становила 6,7 lg КУО/г. Для обох варіантів спостерігали повільне зростання чисельності МКБ, яка досягла максимального рівня на 72 годину в контролі - 5,83 lg КУО/г і 7,98 lg КУО/г – у досліді.

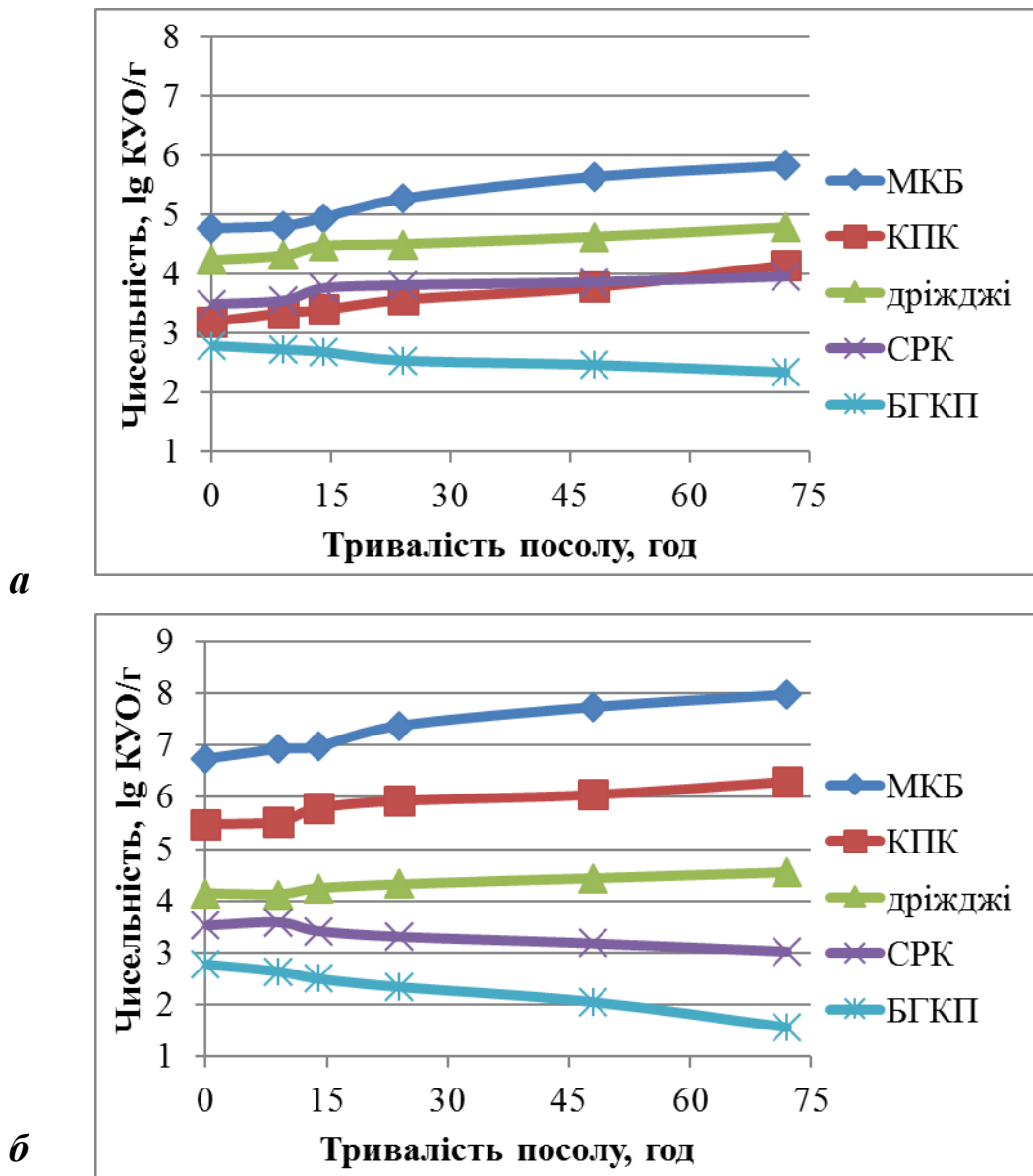


Рис. 10.1. Стан мікробіоти впродовж посолу: *а* – безпрепарату, *б* – з препаратом КПК

Вміст стафілококів на початку ферментації у дослідному варіанті становив 5,47 lg КУО/г і на 72 годину посолу їхня кількість зросла у 7 разів до рівня 6,31 lg КУО/г. Вміст каталазопозитивних коків (*Staphylococcus sp*, *Koskuriia sp.*, *Micrococcus sp.*) у контрольному варіанті на початку дослідження становив – 3,2 lg КУО/г, тоді як на кінець посолу їхня кількість перевищувала початкову майже на 1,0 порядок.

Уміст дріжджів на початку технологічного процесу для обох варіантів знаходився на рівні (4,13-4,24) lg КУО/г. Упродовж посолу чисельність цих

мікроорганізмів у контрольному варіанті зросла до 4,56 lg КУО/г. У дослідному варіанті дріжджі розвивалися менш активно і їх кількість була меншою. Наприкінці посолу їхня кількість була вищою у 2,2 разів у контрольному варіанті порівняно з дослідним зразком, виготовленими зі застосуванням.

Упродовж посолу відбувалось відмирання БГКП, і інтенсивніше цей процес проходив у зразку з препаратом. Так, чисельність БГКП на 72 год посолу знизилася у дослідному варіанті у 3,2 та у 1,1 рази у контролі.

Кількість сульфїтредукувальних клостридій зменшувалась упродовж посолу у дослідному варіанті, тоді як у контрольному спостерігали незнаний приріст цих небезпечних анаеробів.

Результати роботи опубліковано в [78, 89, 95, 240].

10.1.2 Вплив бактеріальних препаратів на фізико-хімічні показники за посолу м'ясної сировини

Отже, пригнічення небажаної сторонньої мікробіоти у баликах з препаратом відбувається раніше порівняно з контрольними, що, в першу чергу, пояснюється конкурентною перевагою мікробіоти препарату та її антагоністичною активністю. Опосередкованим індикатором розвитку може слугувати показник рН. Експериментально було встановлено, у варіанті з бактеріальним препаратом кислотність знижувалася інтенсивніше, ніж у контрольному. У контрольному варіанті за 72 години рН знизилось з 5,74 до 5,64.

Так, у дослідному варіанті за 48 годин значення рН знизилось з 5,73 до 5,61, і на кінець дослідження – 5,5. Такий перебіг біохімічних змін сировини пояснюється активністю молочнокислої мікробіоти, яка у процесі життєдіяльності ферментує вуглеводи м'яса з утворенням кислот (в т.ч. молочної), що призводить до зниження рН м'ясного середовища (рис. 10.2). Відомо, що діапазон рН м'ясної сировини 5,5-5,8 є найбільш бажаним, оскільки за такої кислотності відбувається часткова денатурація білків,

тендеризація м'язової тканини та утворення речовин, які зумовлюють смак і аромат «зрілого» м'яса [175].

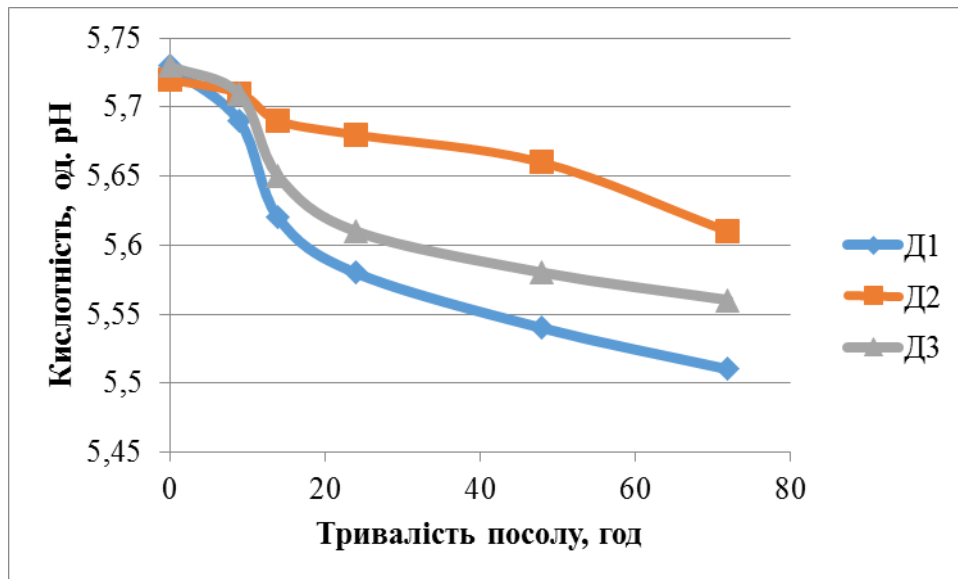


Рис. 10.2 Динаміка зміни рН контрольного та дослідного варіанту з препаратами КПК за посолу.

Утворення молочної зокрема, за ферментації м'ясної сировини запобігає розвитку гнилісної та патогенної мікробіоти, підвищуючи безпеку готового продукту. Відомо, що чим ближче величина рН до ізоелектричної точки білків м'яса (5,4 од.), тим меншою є його здатність до вологозв'язування і, відповідно вищою, – швидкість сушіння. Подібну тенденцію спостерігали застосовуючи бактеріальний препарат «МКС» [34].

Для зразку з препаратом встановлено тісний зв'язок між показниками активної кислотності та активністю води.

Важливим чинником для розвитку мікроорганізмів є вміст у середовищі вільної та слабкозв'язаної води. Активність води (a_w) – показник, за яким можна оцінити вміст води доступної для мікроорганізмів, а отже стабільність продукту [222].

За результатами досліджень встановлено, що зменшення a_w у варіантах з препаратом відбувається інтенсивніше а ніж у варіантах без нього (табл. 10.3), що може бути наслідком активного її споживання за активного розвитку заквашувальної мікробіоти. Так, на 72 годину посолу для зразків

активність води становила $0,969 \pm 0,003$ для контролю та $0,965 \pm 0,003$ для досліду.

Таблиця 10.1

Активність води (a_w) впродовж посолу

Варіант	Тривалість посолу, год					
	0	9	14	24	48	72
Д1	0,990*	0,985	0,981	0,975	0,978	0,969
Д2	0,989	0,983	0,981	0,974	0,972	0,967
Д3	0,988	0,983	0,979	0,972	0,970	0,965

*Похибка вимірювання не перевищує 0,003

Отже, викладені вище результати свідчать про істотний вклад бактеріального препарату у забезпечення санітарно-епідеміологічної безпеки готового продукту. Так, бактеріальні препарати внесені у м'ясну сировину, швидко реактивуються, та конкурують зі спонтанною мікробіотою м'ясної сировини. Завдяки високій антагоністичній активності по відношенню до спонтанної мікробіоти м'ясної сировини пригнічується розвиток небезпечних контамінантів БГКП, стафілококу та умовно-патогенних мікроорганізмів, чим стабілізують рівень мікробіологічної безпечності.

У виробництві продуктів з м'яса однією з головних харчових добавок є нітрит натрію, який за посолу м'ясних продуктів здійснює багатофункціональний вплив: на кольороутворення і ароматоутворення, забезпечуює консервуючу і антиокиснювальну дію.

Швидкість і інтенсивність забарвлення залежать від ступеня розщеплення нітриту натрію і кількості оксиду азоту, який накопичується в м'ясі. При цьому значна частина нітриту натрію залишається в готовому продукті [222].

Дослідні варіанти характеризуються покращеними колірними характеристиками у порівнянні з контрольними, це відбувається за рахунок

нітритредуктази, продуцентом якої є *Kocuria rosea*, а також лактобактерій, які активно знижували рН середовища.

Результати досліджень кількості нітрозопігментів та стійкості кольору контрольних та дослідних зразків представлено на рис. 10.3.

На 72 годину посолу стійкість забарвлення дослідних зразків перевищувала контроль приблизно на 19 %.

Таким чином, застосування бактеріальних препаратів за посолу позитивно впливає на формування комплексу необхідних колірних характеристик [462].

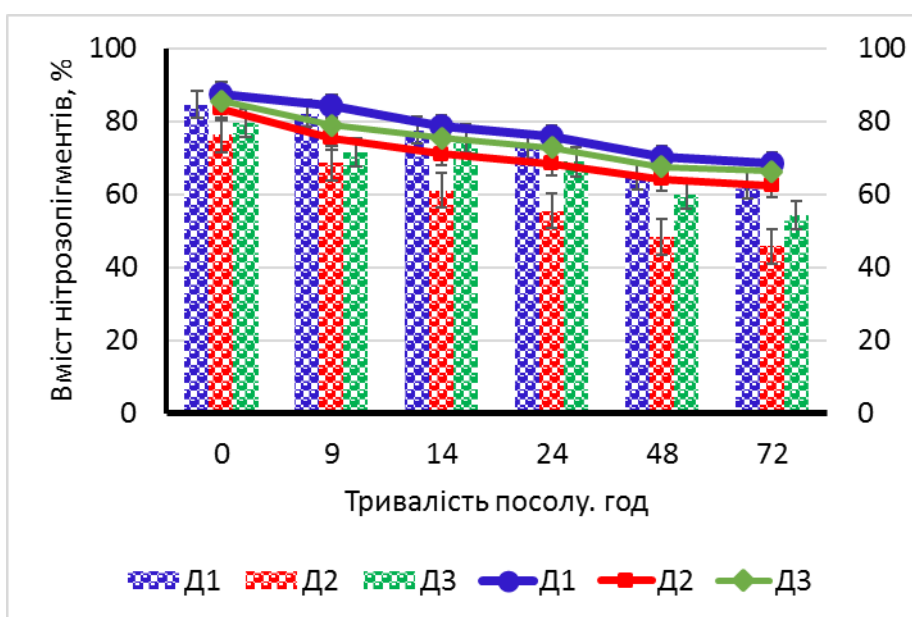


Рис. 10.3 Динаміка зміни кількості нітрозопігментів і стійкості кольору контрольних та дослідних зразків за посолу

Одержані результати узгоджуються з публікаціями дослідників, в яких наведено результати позитивна роль бакпрепаратів у формуванні стабільного забарвлення м'ясних продуктів, до складу яких залучено нітритредукувальні мікроорганізми [14, 196].

10.2 Вплив бактеріальної композиції на фізико-хімічні і функціонально-технологічні властивості м'ясної сировини за посолу

Перетворення в м'ясній сировині за посолу, спрямовані на екстрагування солерозчинних білків і, відповідно, поліпшення функціонально-

технологічних та структурно-механічних властивостей м'ясної сировини, зокрема підвищення вологосв'язувальної здатності і пластичності. Зазначені ефекти можна досягти, регулюючи параметри посолу, в тому числі застосовуючи біотехнологічні прийоми. Зміна ВЗЗ м'ясної сировини є важливим показником для формування структури готового продукту, результати дослідження її зміни представлені на рис. 10.4.

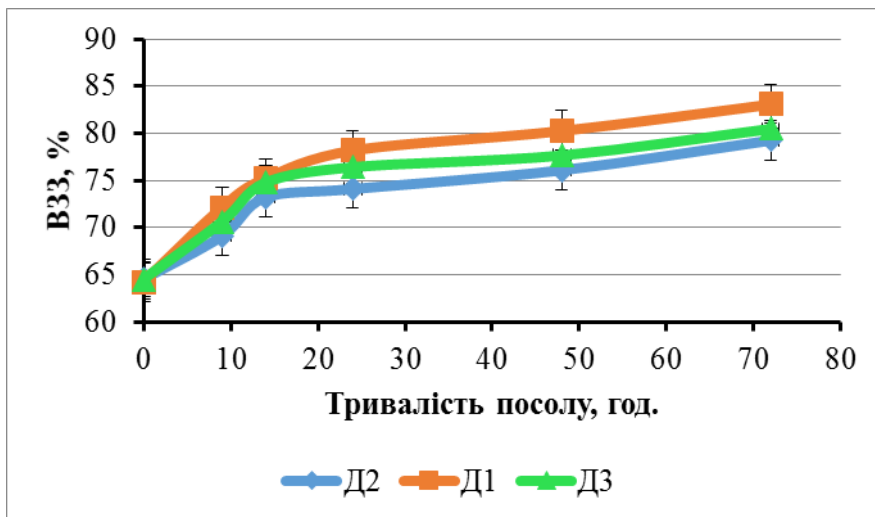


Рис. 10.4 – Динаміка зміни ВЗЗ контрольних та дослідних зразків м'ясної сировини за посолу

Дослідження показали, що значення ВЗЗ за посолу м'ясної сировини у всіх варіантах збільшується. Так, як молочнокислі мікроорганізми у процесі життєдіяльності продукують органічні сполуки різної природи, дія на протеїн м'ясної системи посилюється, зокрема за рахунок зниження рН. Так, аналізуючи дані рис. 10.4, видно що дослідні варіанти, зі застосуванням заквашувальної мікробіоти, характеризувався вищими значеннями ВЗЗ, ніж контрольний, 80-77 % вже на 48 годину посолу, у той час як у Д3 варіанті на кінець експерименту показник вирівнявся з Д1 та Д2 і становив - 79,27 %.

Було досліджено структурно-механічний показник - пластичність. Від пластичності м'ясної сировини залежить ніжність та, у певній мірі, соковитість готових виробів. Динаміка зміни пластичності контрольних та дослідних зразків м'ясної сировини під час посолу представлено на рис. 10.5.

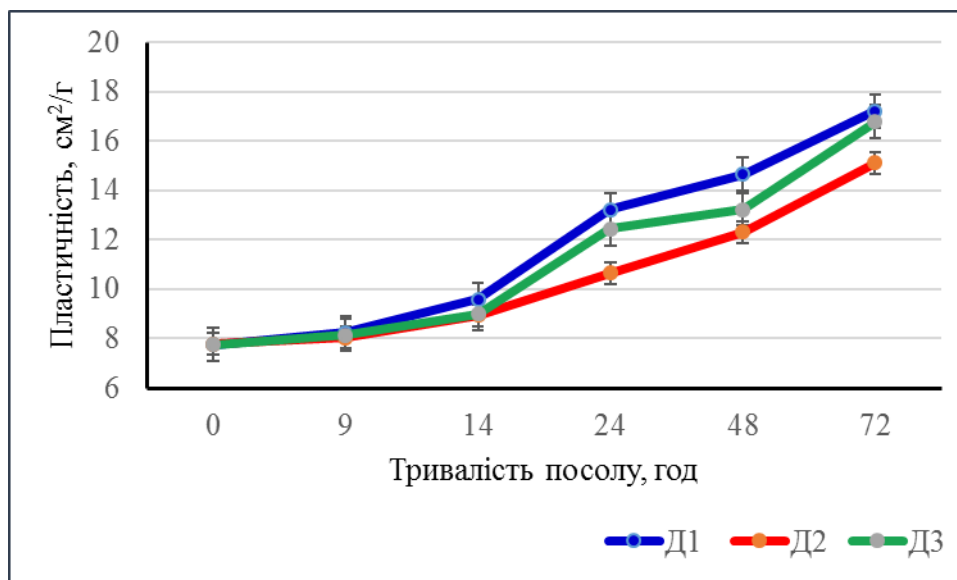


Рис. 10.5 Динаміка зміни пластичності контрольних та дослідних зразків м'ясної сировини за посолу

З рис.10.5 видно, що пластичність досліджуваних зразків збільшується прямопропорційно часу витримки у посолі. Дані тенденції спостерігаються у всіх варіантах. Проте ці показники для дослідних та контрольних варіантів дещо відрізняються. Так, пластичність Д1 змінюється від 7,78 см²/г до 17,23 см²/г, Д2 від 7,76 см²/г до 15,11 см²/г, а Д3 від 7,76 см²/г до 17,11 см²/г. Такий перебіг біохімічних змін дослідних зразків можна пояснити протеолітичною активністю молочнокислих бактерій. Збільшення пластичності можна розглядати, як характеристику процесу тендеризації м'ясної сировини.

Отже, на підставі проведених досліджень можна зробити висновок, що застосування комплексного біотехнологічного підходу, прискорює біохімічні процеси за посолу м'ясної сировини та забезпечує необхідні функціонально-технологічні властивості сировини.

10.3 Вплив бактеріальних композицій на формування смако-ароматичних властивостей м'ясної сировини за посолу

Відомо, що під час посолу м'ясної сировини відбуваються специфічні біохімічні перетворення, які обумовлюють необхідні органолептичні характеристики готового продукту. Бактерії роду *Lactobacillus* самі є продуцентами попередників аромату і смаку, та сприяють формуванню специфічних органолептичних характеристик готових продуктів.

Одним із найбільш інформативних показників формування смако-ароматичних властивостей м'ясної сировини є вміст летких жирних кислот (рис. 10.6). Аналізуючи результати рис.10.6, видно що у дослідних варіантах Д1 та Д3 спостерігається інтенсивніше нагромадження ЛЖК у порівнянні з Д2. Так, на 72 годину посолу різниця у вмісті ЛЖК між Д1 та Д2 склала 22 %. У зв'язку з тим, що процес утворення ЛЖК є ферментативні, дана тенденція пояснюється, вірогідно, тим, що, гідроліз ліпідів відбувається під дією не лише тканинних ферментів катепсинів (як в контрольній), але і ліпаз, утворених внаслідок життєдіяльності бактеріальної композиції.

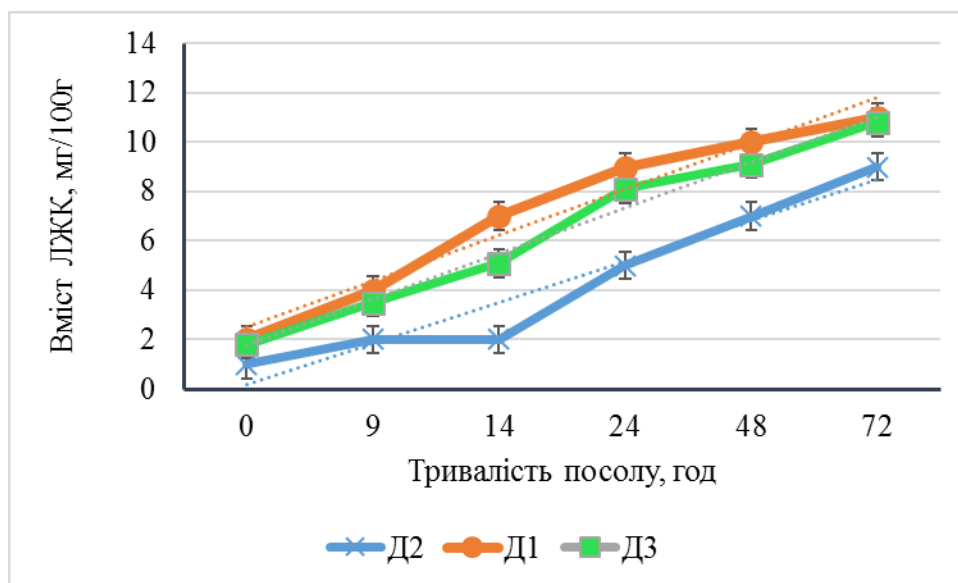


Рис. 10.6 Динаміка нагромадження летких жирних кислот у дослідних варіантах за посолу м'ясної сировини

Також варто зауважити, що посилення протеолітичної активності ферментів залежить від кислотності середовища, яка має знаходитися в межах 5,4 - 5,6. Як вже було встановлено раніше рН середовища в дослідних зразках досягає оптимальних значень на 72 годину посолу.

10.4 Вплив бактеріальних препаратів на спонтанну мікробіоту та фізико-хімічні показники сиров'ялених виробів

На усіх стадіях технологічного процесу - після обробляння сіллю, після процесу соління, після визрівання та сушіння на 2, 5 добу досліджували динаміку чисельності молочнокислих, кількість мікрококів, кількість дріжджів та плісняви та бактерій групи кишкової палички БГКП (рис.10.7).

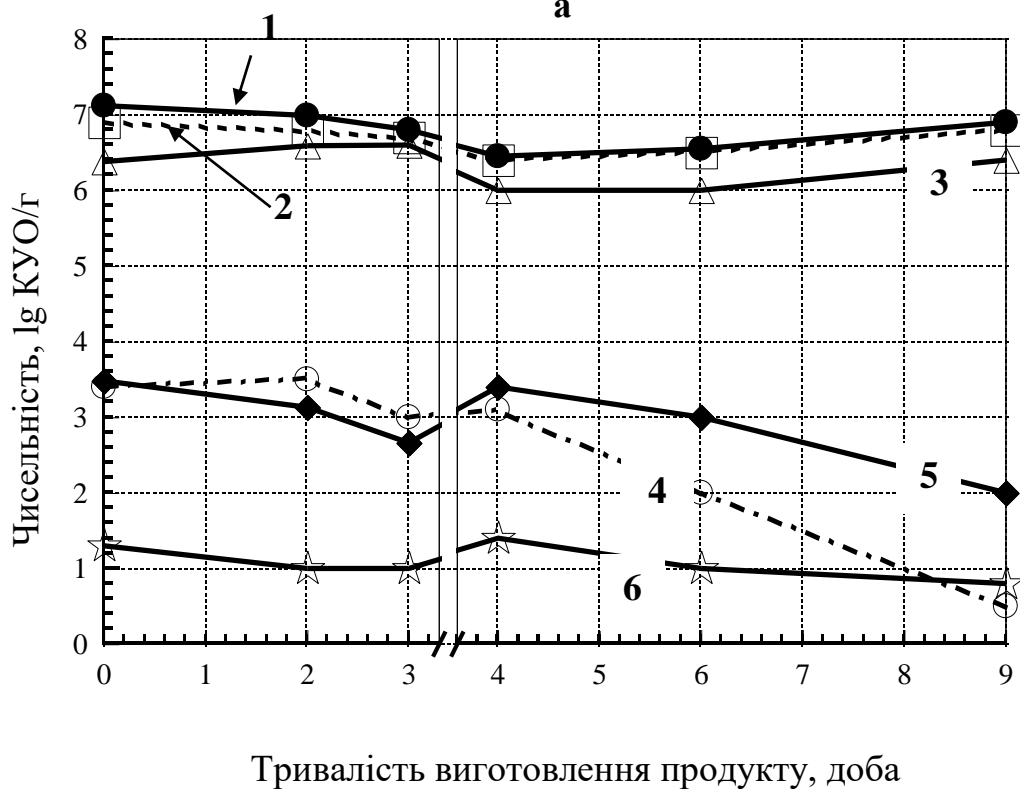
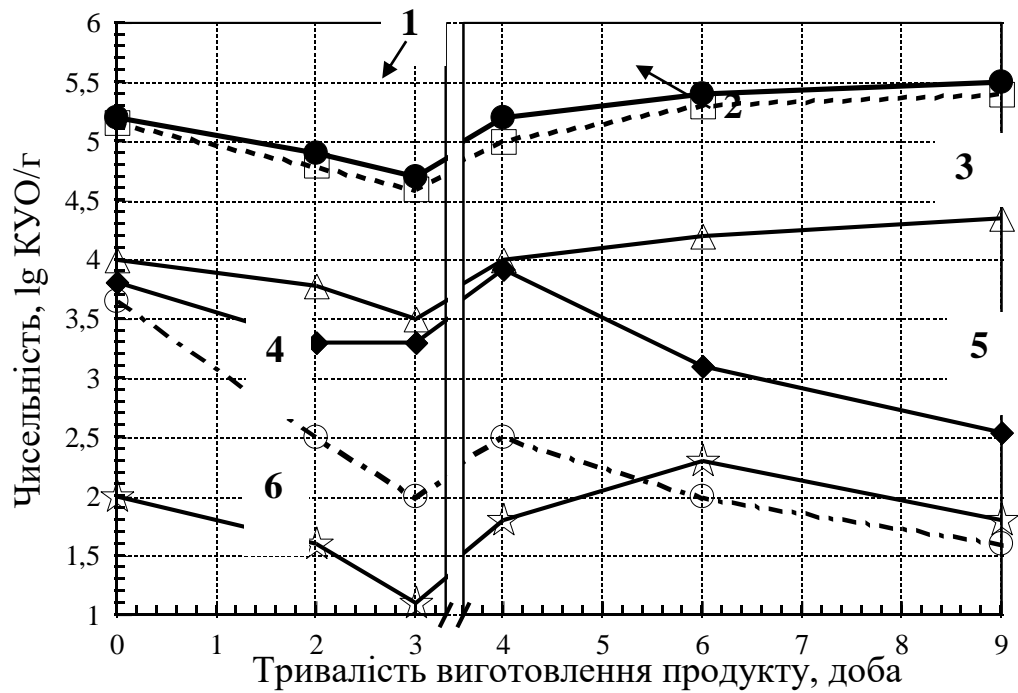


Рис. 10.7. Динаміка розвитку мікробіоти сиров'яленого балику під час визрівання.

а) контроль – продукт, вироблений без застосування композиції;
 б) продукт із № 1 - “ЛРР”. 1- Загальна чисельність мікроорганізмів, 2- МКБ – молочнокислі бактерії, 3 -МК – мікрококи, 4-БГКП – бактерії групи кишкової палички, 5-ДР – дріжджі, 6-ПЛ – пліснява.

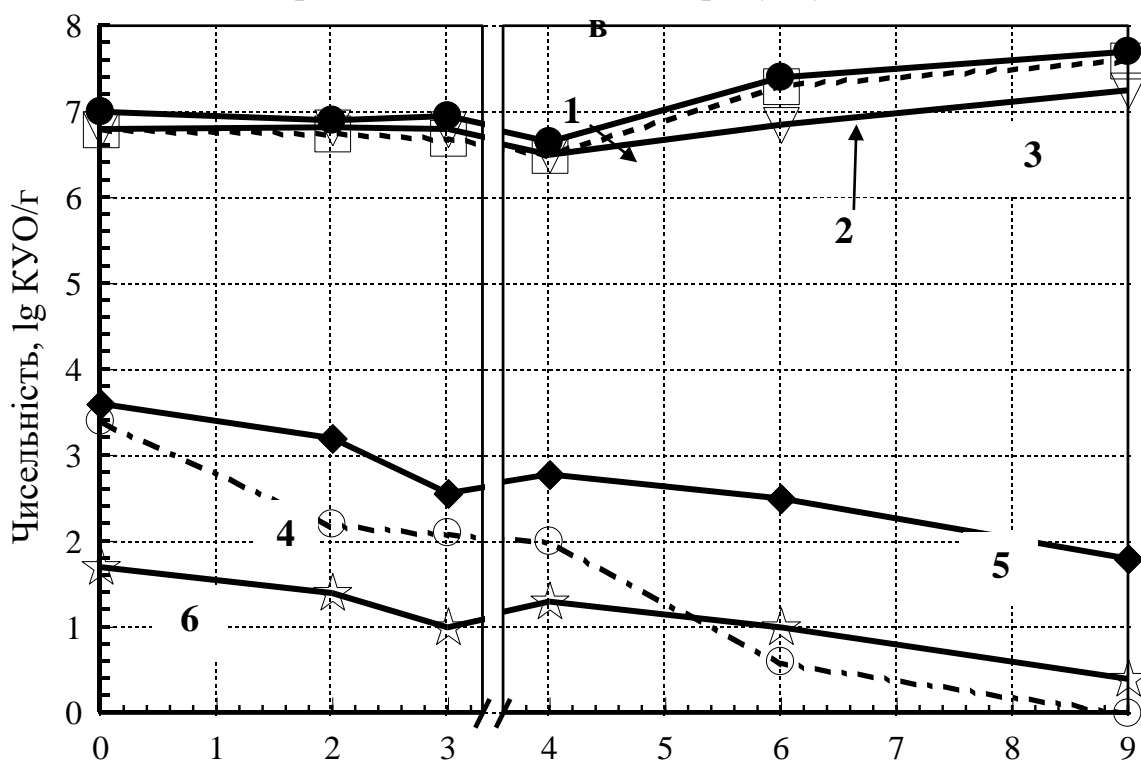
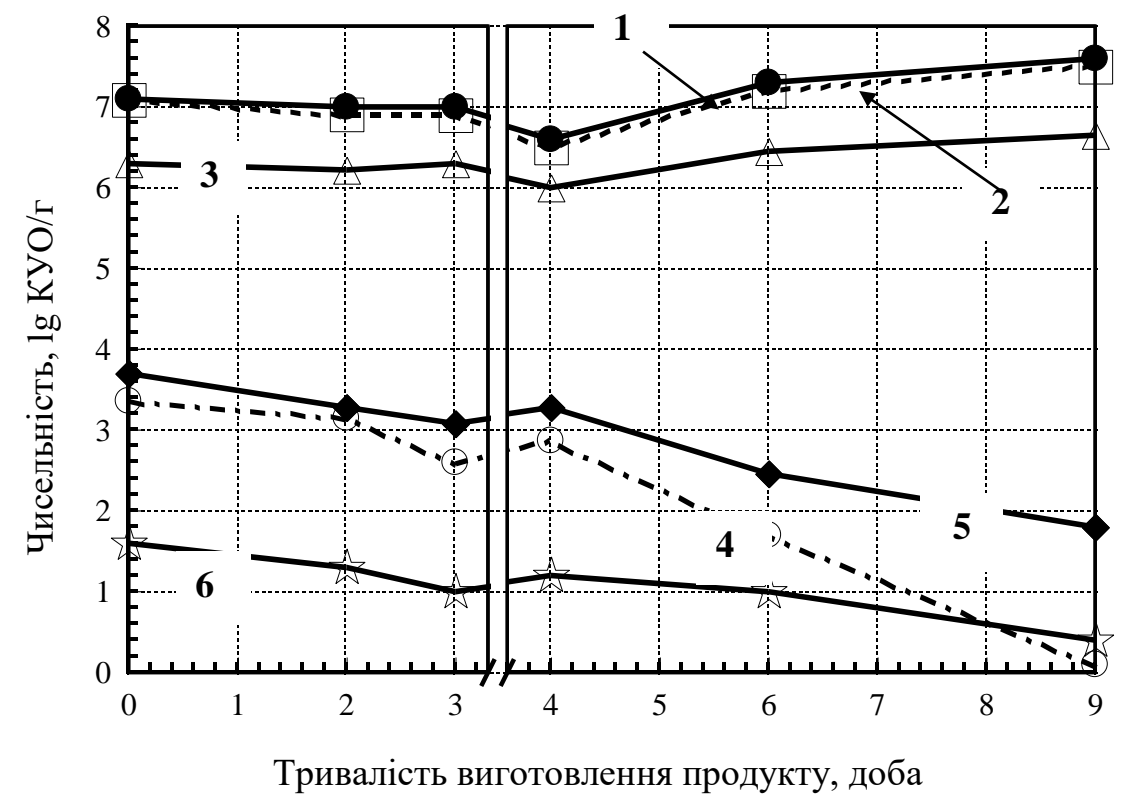


Рис. 10.7. Динаміка розвитку мікробіоти сиров'ятого балику під час визрівання. **в)** Продукт із композицією №2 - "Лакмік"; **г)** Продукт із композицією №3 - "КПК". 1- Загальна чисельність мікроорганізмів, 2- МКБ – молочнокислі бактерії, 3- МК – мікрококи, 4- БГКП – бактерії групи кишкової палички, 5- ДР – дріжджі, 6- ПЛ – пліснява.

На початку визрівання у контрольному варіанті чисельність спонтанних молочнокислих бактерій становила $1,5 \cdot 10^5$ КУО/г і на кінець ферментування збільшилась в 1,74 рази до початкового вмісту клітин. Вміст мікрококів зростав інтенсивніше у 3,5 рази порівняно із початковою кількістю ($1,0 \cdot 10^4$ КУО/г). Дріжджі були присутні як на початку ($7,1 \cdot 10^3$ КУО/г), так і наприкінці процесу і їхній вміст за термін дослідів знизився у 18,6 разів, а кількість плісняви зменшилась у 1,6 рази порівняно з початковою кількістю ($1,0 \cdot 10^2$ КУО/г) (див. рис. 10.7 а). Слід зазначити, що впродовж всього технологічного процесу в усіх варіантах фаршу коагулазопозитивний *Staphylococcus* ssp. був відсутній, що вказує на високу якість м'ясної сировини. Санітарно-показова мікробіота була представлена лише бактеріями групи кишкової палички (БГКП) – $4,5 \cdot 10^3$ КУО/г і зменшилась на кінець експерименту в 112,2 разів.

Після 3-ї доби посолу свинини (3,5% посолочної суміші) в дослідних варіантах заквашувальна мікробіота зменшилась лише в 1,2-1,5 рази, а спонтанна мікробіота - в 3,2 рази, відповідно. Така сама закономірність була відмічена після посолу м'ясної сировини - м'яса птиці, це свідчить про адаптованість дослідних композицій до хлориду натрію не залежно від типу м'ясної сировини.

Однак технологічний етап обмивання водою на 4 добу експерименту призвів до зменшення чисельності заквашувальної мікробіоти (від 1,5 до 3,9 рази) і збільшення спонтанної мікробіоти (від 3,2 до 5,1 рази). Внесення дослідних заквашувальних композицій обумовлювало специфічний напрям ферментування сировини навіть після цієї операції. Порівнюючи між собою розвиток мікробіоти композицій, на 9-ту добу ферментування порівняно з 4-ю добою спостерігали найбільший приріст життєздатних клітин молочнокислих бактерій у композиції №3 – “КПК” (12,6 рази). Цей показник у продукті № 1 із “ЛРР” і № 2 із “Лакмік” збільшився у 2,5 рази та 10 разів, відповідно. Інтенсивний розвиток молочнокислих бактерій у композиції № 3

можна пояснити адаптованістю композиції до даної сировини (див. рис. 10.7. б, в, г).

У дослідних варіантах № 1, № 2 та № 3 особливо інтенсивний розвиток мікрококів відбувався упродовж останніх 5 діб, при цьому було зафіксовано збільшення чисельності цих мікроорганізмів у 2,58 разів, 4,47 разів та 5,62 рази, відповідно, порівняно з їх концентрацією на 4 добу. Наші результати узгоджується з літературними даними [366, 356].

На підставі проведених досліджень можна засвідчити, що найкращою серед досліджених трьох заквашувальних композицій щодо функціонування у м'ясі свинини виявилась композиція № 3 “КПК”.

Слід зазначити, що у свинині композиції “КПК”, “Лакмік” та “ЛРР” інтенсивніше впливали на відмирання БГКП, які зникали на 9 добу ферментування, ніж у контрольному варіанті, де присутність їх на цю добу ще спостерігалась у кількості $3,5 \cdot 10^1$ КУО/г. Найінтенсивніше це відбувалось у варіанті № 3 (див. рис. 10.7).

Наприкінці ферментації усі варіанти дослідних композицій пригнічували розвиток дріжджів інтенсивніше в (30,2 - 63,1) рази, порівняно з контрольным продуктом (18,6 разів), але найактивніше цей процес відбувався у варіантах № 2 та № 3. Щодо плісняв, то вони відмирили інтенсивніше в усіх дослідних варіантах (у 3,2-19,9 разів), порівняно з контролем. У контрольному варіанті їх кількість зменшилась лише у 1,6 рази відповідно до початкової концентрації клітин. Це свідчить про доцільність використання заквашувальних композицій для забезпечення чистоти ферментованих м'ясних продуктів.

10.5 Вплив заквашувальної композиції «КПК» на формування смако-ароматичних характеристик ферментованих м'ясних продуктів

Упродовж визрівання сиров'яленого балику рівень вільних амінокислот збільшувався і їх спектр був різним у досліджених варіантах з різними композиціями (рис.10.8).

На 9 добу ферментування сировини концентрація вільних циклічних амінокислот порівняно з початковим їх вмістом (160,28 мг/100 г СР) зросла у досліджених варіантах у 1,41–1,57 разів, а у контролі К – в 1,32 рази. Щодо зміни концентрації ациклічних амінокислот, то у цих продуктах їхній вміст збільшився у 5,54–7,17 рази, у контролі (К) – лише в 4,41 разів, порівняно з вихідною сировиною, при їх початковому вмісті 348,98 мг/100 г СР.

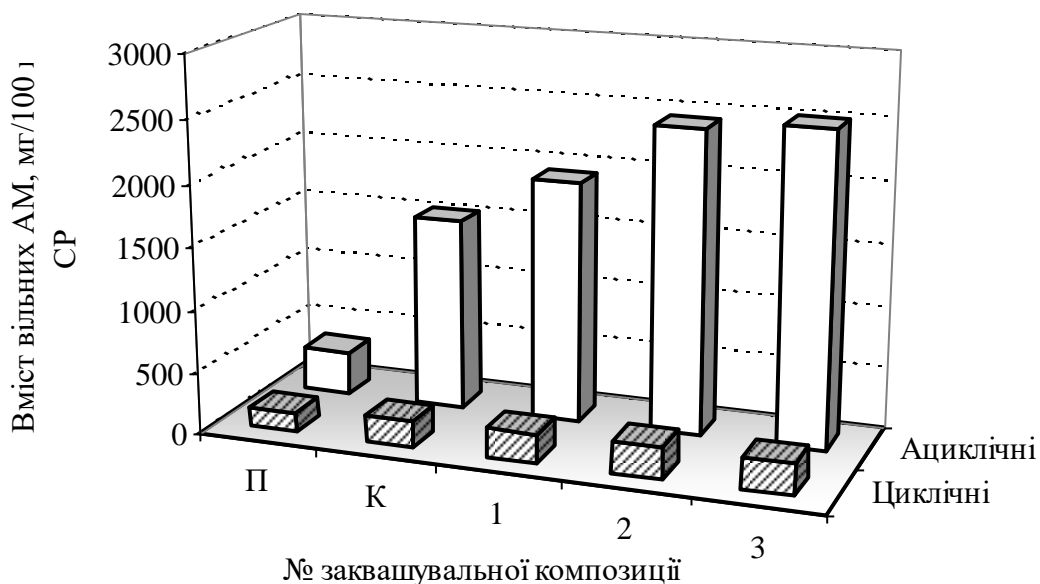


Рис. 10.8. Нагромадження вільних циклічних та ациклічних амінокислот у готовому сиров'яленому балику.

П – вихідна м'ясна сировина, К контроль – продукт, вироблений без застосування композиції; ферментовані продукти: 1 – з композицією “ЛРР”, 2 – з композицією “Лакмік”, 3- з композицією “КПК”.

У продуктах, інокульованих композиціями № 1, № 2 та № 3, збільшення вмісту ациклічних амінокислот відбулось на 112,4 %, на 258,1 % та на 276,0 %, відповідно, і циклічних амінокислот на 8,8 %, на 23,7 % та на 24,7 %, відповідно, порівняно з їх рівнем у готовому контрольному варіанті (див. рис. 10.8).

Додавання ферментного препарату протосубтилін також призводив до приросту вмісту вільних амінокислот у готових сиров'ялених продуктах. На десяту добу дозрівання загальна кількість вільних амінокислот зросла на 48 %, що значно менше ніж при додаванні бактеріальних препаратів [79, 237].

Порівнюючи вплив різних заквашувальних композицій, на протеоліз свинини встановлено, що протеолітичні процеси відбувались активніше у дослідному варіанті № 2.

Відомо, що використання нітриту додають як для забарвлення, так і для пригнічення росту *Clostridium botulinum* упродовж визрівання м'ясопродуктів [176, 188, 334]. Беручи до уваги потенційну небезпеку нітриту натрію та складність регулювання реакцій утворення нітрозопігментів, досліджували вміст нітриту натрію упродовж визрівання сиров'яленого балику зі свинини (рис.10.9).

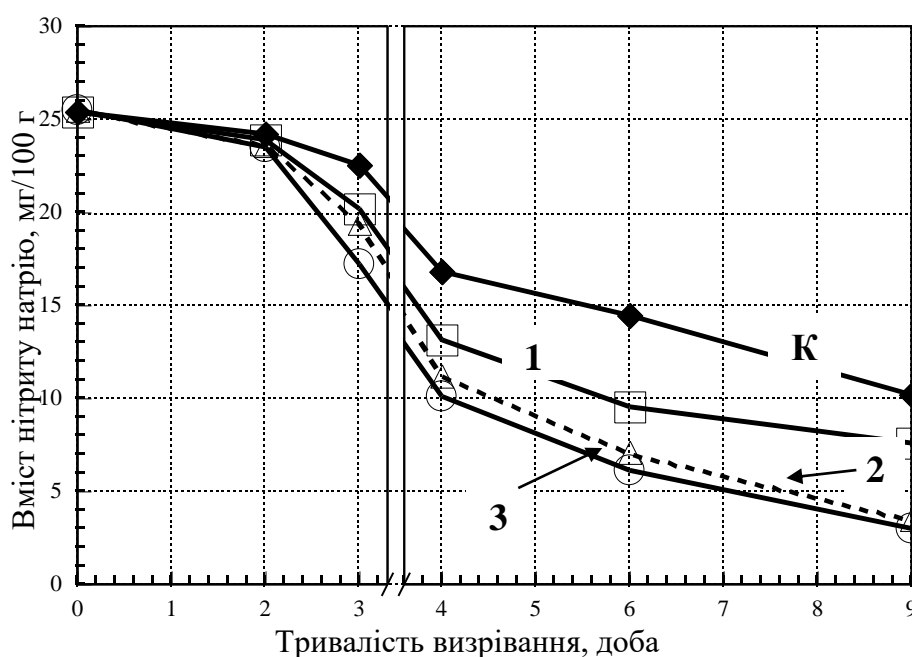


Рис. 10.9. Вміст нітриту натрію упродовж визрівання сиров'яленого балику.

К – контрольний продукт без композиції, ферментовані продукти: 1 – з композицією “ЛРР”, 2 – з композицією “Лакмік”, 3- з композицією “КПК”.

Упродовж перших 3 діб соління зниження вмісту нітриту натрію було повільним - у межах 20,5 – 32,5 % у продуктах, ферментованими

заквашувальними композиціями, а у контролі 11,3 % порівняно з початковим вмістом солі NaNO_2 був 25 мг/100 г сировини, що відповідає рецептурі виготовлення балику зі свинини.

Встановлено, що дослідних варіантах вміст нітритів активно знижувався на 9 добу визрівання – на 70 - 88 % від початкового. Найактивнішими з них були композиції № 2, № 3 порівняно з контролем К (60%) (див. рис. 10.9).

Таким чином, за технологічними параметрами - продуктивністю, нітритредуючою та протеолітичною активностями, як перспективні для ферментування свинини обрано бактеріальний препарат “КПК”.

Об’єктивними методами оцінювання структури і консистенції зразків є структурно-механічні.

Зусилля зрізу відображає структуру (консистенцію) м’ясних продуктів, характеризує ступінь ніжності та жорсткості готового виробу й залежить від якісного складу білків м’яса, вмісту сполучної тканини, вологи, жиру. Гранична напруга зрізу найповніше відображає внутрішню текстуру продукту, характеризує її якісні розбіжності, консистенцію та ступінь механічної обробки. Для визначення показника зусилля зрізу застосовують метод пенетрації, оснований на встановленні структурно-механічних властивостей продуктів за величиною їх опору під дією індекторів різних форм і розмірів. За величиною граничного зусилля зрізу найбільш об’єктивно можна оцінити консистенцію продукту, тоді як зусилля зрізу характеризує міцність і жорсткість системи, що тісно пов’язані з якістю продукту. Інтенсивність видалення вологи та зниження активної кислотності під час дозрівання мали вплив на формування консистенції зразків, яку оцінювали за сукупністю реологічних параметрів: показниками напруження зрізу та роботи різання (рис. 10.10).

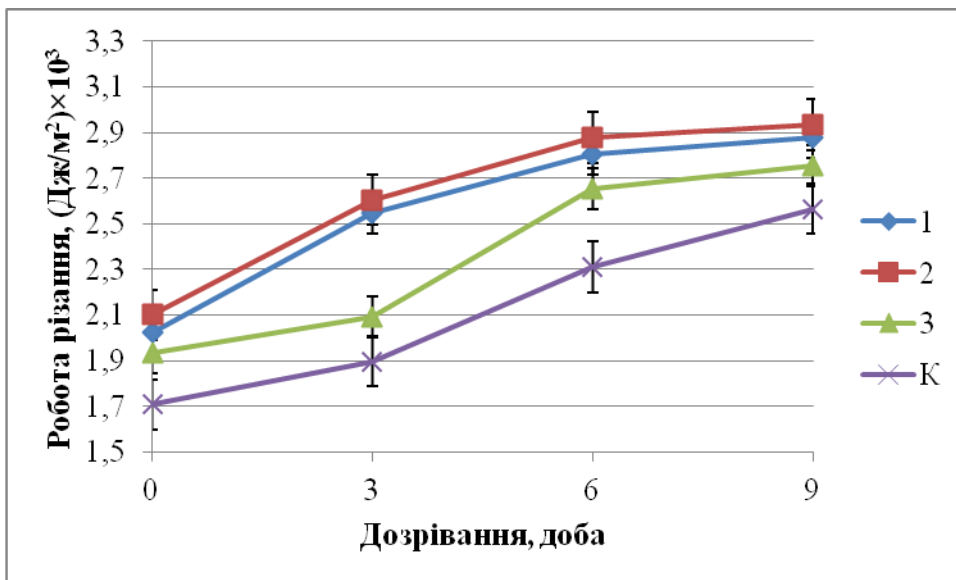


Рис.10.10 Зміни структурно-механічних показників ферментованих зразків під час дозрівання.

Як видно з графіків зміни напруження зрізу і роботи різання під час дозрівання характеризувалися поступовим зростанням цих показників. Показник напруження зрізу під час дозрівання зростав з $0,5 \cdot 10^4$ Н/м² до $2,4 \cdot 10^4$ Н/м² у контролі зі свинини до $3,15$ Н/м² у варіантів з препаратом, тобто у 4,8 рази. Напруження зрізу для зразків з яловичини була дещо більша і зросла лише на 1,2 рази.

Схожа тенденція спостерігається і при аналізуванні змін роботи різання. Від початку дозрівання цей показник зростав у 4,0 рази у зразках зі свинини та у 3,8 разів у зразках з яловичини.

Утворення належної консистенції у зразках з препаратом зумовлено тим, що у процесі метаболізму мікроорганізми синтезують різні екзо- і ендоферменти (протеази, протеїнази), які сприяють протеолітичному розпаду білків м'яса, тобто бактеріальні культури беруть участь у формуванні щільної консистенції зразків під час дозрівання.

Органолептичне оцінювання готової продукції показало незначну, проте істотну різницю між дослідженими варіантами (з препаратом “КПК” та без нього) (табл. 10.2).

Таблиця 10.2

Оцінка сиров'ялених виробів за органолептичними показниками

Варіанти	Показники					Загальна оцінка, бали
	Зовнішній вигляд	Колір	Запах та аромат	Консистенція	Смак	
Балик зі свинини						
Дослід	красивий	червоний	ароматний	пружна	смачний, з характерною кислинкою	4,8
Контроль	хороший	червоний	невиражений	гумова	без вираженого смаку	4,2

Так, зразки з препаратом були м'які та пружні за консистенцією, з інтенсивнішим забарвленням. Зразки також розрізнялися за запахом та смаком. Контрольним варіантам були притаманні присмак старого сала та невиражений аромат. Дослідний зразок мав приємний аромат та специфічний смак, характерний для сиров'яленого м'ясного продукту. Протокол дегустації представлено в додатку К. 1

Отримані результати опубліковані у роботі [223].

Проведено експериментальну апробацію бактеріального препарату «ЛРР» у промислових умовах під час виробництва сиров'ялених баликів на м'ясопереробному підприємстві ВКФ «Укрпромпомтач-95» ЛТД (Додаток К2).

Висновки до розділу 10

1. Апробовано бактеріальні препарати “КПК” та “ЛРР” у виробництві сиров'ялених баликів. Сухі препарати вносили в кількості 0,3 % до об'єму сировини.

2. Досліджено вплив створених препаратів “КПК” та “ЛРР” на основні фізико-хімічні та біохімічні показники сиров’ялених продуктів за час їх посолу та виробництва.

3. Визначено характерні розбіжності перебігу біохімічних процесів у сиров’ялених продуктах, виготовлених без препарату та з бактеріальними препаратами. Встановлено, що ферментовані продукти мають ліпшу якість, що обумовлено дією заквашувальних культур. Продукт зі створеним препаратом “КПК” характеризувався найвищими показниками якості, відбувалось відмирання БГКП, уже на 9 добу ферментування, тоді як у контролі цей процес тривав до 12 доби.

4. Показано, що застосування препарату “КПК” та «ЛРР» у виробництві сиров’ялених баликів зі свинини скорочує тривалість технологічного циклу на 3-4 доби, забезпечує високий ступінь санітарно-епідемічної безпеки готового продукту: відсутність умовно-патогенних, патогенних мікроорганізмів та гарантує низький залишковий вміст нітриту натрію до 0,003 %, що відповідає вимогам ДСТУ 4427:2005 “Ковбаси сирокочені та сиров’ялені”.

5. Показано, що препарат “КПК” забезпечує стабільну високу органолептичну характеристику готовому продукту.

ВИСНОВКИ

У роботі вивчено пробіотичні властивості штамів лакто- та біфідобактерій, ізольованих із біологічного матеріалу сільськогосподарських тварин, визначено перспективність їхнього промислового застосування, а також технологічні властивості лактобактерій і мікрококів, вилучених з ферментованих м'ясних продуктів. На основі активних штамів створено інноваційні біопрепарати для відгодівлі сільськогосподарських тварин та ферментування м'ясної сировини, визначено їх ефективність для отримання високоякісної м'ясної сировини та готових м'ясних продуктів. Отримані дані дозволили зробити наступні висновки.

1. Встановлено, що мікробіота сільськогосподарських тварин різниться за своїм видовим складом, а саме у поросят та телят частка лактобацил *L. plantarum* та *L. acidophilum*, склала по 21 % для кожного з цих видів; у поросят переважали біфідобактерії виду *B. longum* (13,8%), у телят - *B. infantis* (17,2 %) та у птиці - *B. pullorum* та *B. gallinarum* (12,6 %).

2. Виділення та культивування культур дозволило поповнити колекцію промислових мікроорганізмів ІПР НААН 10 новими штамми, що задовольняють вимогам до пробіотиків, а саме: *Bifidobacterium gallinarum*, *B. pullorum*, *B. suis*, *B. infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* і *L. paracasei ssp. paracasei*. Штами *L. rhamnosus* 3333 і *L. paracasei* 3800, як найактивніші, захищено патентами на винахід.

3. На основі регіональних біологічно активних штамів молочнокислих та біфідобактерій, виділених із здорових тварин, розроблено багатовидові функціональні біодобавки «БК-П» (*B. infantis* 4302, *B. suis* 4500, *L. acidophilus* 3137, *L. plantarum* 3207), «БК-Т» (*B. infantis* 4302, *B. animalis* 4506, *L. acidophilus* 3137, *L. paracasei ssp. paracasei* 3801) та «БК-Пт» (*B. pullorum* 4601, *L. plantarum* 3207, *L. paracasei ssp. paracasei* 3800, *L. rhamnosus* 3333) для відгодівлі, відповідно, ВРХ, поросят та птиці. Доведено, що розроблені інноваційні функціональні біодобавки «БК-П», «БК-Т» та «БК-Пт» поліпшують епізоотологічну ситуацію в тваринницьких

господарствах АПК. Розроблено нормативні документи на функціональні біодобавки «Пробіотики «ТІММ» для сільськогосподарських тварин».

4. Опрацьовано режими та параметри біотехнології функціональних біодобавок: склад та якість інокуляту; рецептури економічно перспективних поживних середовищ, до яких уперше залучено премікси з високою рістстимулювальною активністю «ФІЗ» та «Три-Сол»; постадійне культивування з підживленням культуральної рідини глюкозою, що дозволило подовжити фазу активного росту культури та забезпечити узгоджений ріст мікроорганізмів; встановлено склад ефективного захисного середовища та його кількість на одиницю сирової біомаси (1:2), що дозволяє зберегти 96-98 % біомаси, необхідне співвідношення між складниками бактеріальної композиції, досягти високої чисельності біологічно активних мікроорганізмів у готовому біопрепараті – 10^{11} КУО/г та подовжити термін зберігання функціональних добавок на 6 місяців.

5. Доведено безпечність та економічну ефективність розроблених функціональних біодобавок нового покоління для молодняку сільськогосподарських тварин: ВРХ – «БК-Т», свиней – «БК-П» та птиці – «БК-Пт».

6. Експериментально визначено раціональну дозу функціональної біодобавки «БК-П» для птиці – 1 г на 1 кг корму. Така кількість біопрепарату сприяє ранньому формуванню у курчат нормальної кишкової мікробіоти, стимулює утворення еритроцитів на 9,2 %, гемоглобіну на 20,3%, синтез сироваткового білку на 7,7 % і, як наслідок, підвищує збереження птиці на 6,0 %, Біотехнологію отримання функціональної добавки «БК-Пт» захищено патентом України на винахід.

7. Встановлено, що ефективним засобом профілактики шлунково-кишкових захворювань поросят слугує функціональна біодобавка «БК-П» у кількості 0,2 г/дм³. Її застосування позитивно впливає на кровотворну систему, збільшуючи число еритроцитів до 2-х місячного віку тварин на 3,4-8,1%; поліпшує білковий обмін за рахунок зростання концентрації загального

протеїну на 7,7 %, що сприяє підвищенню середньодобового приросту маси тіла. Склад мікробіоценозу представлено переважно біфідо- і лактобактеріями, відповідно, (9,8-10,8) lg КУО/г і (8,4 - 8,9) lg КУО/г. Часка інших представників кишкової мікробіоти коливалась в межах (1-5) %. Живой маси 100 кг поросята дослідної групи досягли на 6 діб раніше ніж контрольної. Прибуток від реалізації сировини становить 139,83 грн на 1 голову.

8. Встановлено, що введення функціональної добавки «БК-Т» у дозі 0,5 см³ білим щурам не призводить до загибелі тварин, не впливає на масові коефіцієнти внутрішніх органів, та характеризує її як практично нетоксичну (V клас токсичності) відповідно до загальноприйнятої токсикологічної класифікації речовин. Тривале ведення функціональної добавки у терапевтичній дозі не впливає на функціональний стан внутрішніх органів.

9. Доведено, що для профілактики шлунково-кишкових захворювань новонародженим телятам доцільно додавати функціональну добавку «БК-Т» з розрахунку 100-150 см³ на одну голову після першого випоювання молозива. Встановлено, що через 12 місяців вихід туші у бичків дослідної групи був більшим на 1,34 % ніж у контрольній групі. Вміст протеїну в м'ясі бичків контрольної групи був меншим ніж у м'ясі тварин дослідної групи на 1,46 % і вміст сухої речовини на 1,91 %. Прибуток від реалізації сировини становить 589,3 грн на 1 голову.

10. Відповідно до результатів скринінгу штамів за важливими у м'ясоперемісній галузі технологічними властивостями такими як солестійкість, нітритредукувальна та протеолітична активності відібрано, ідентифіковано та залучено до Колекції промислових штамів ІПР 35 високопродуктивних культур: *L. rhamnosus*, *L. coryniformis* ssp. *coryniformis*, *L. sake*, *L. curvatus*, *L. casei* ssp. *tolerans*, *Propionibacterium acnes*, *M. varians*, *M. roseus*, *M. nishinomiyaensis*, *Staphylococcus simulans*, *S. saprophyticus*, *S. carnosus*, з яких 7 задепоновано у Національному депозитарії промислових мікроорганізмів

ІМВ НАНУ.

11. Складено заквашувальні композиції наступного складу: “ЛРР” *L. rhamnosus* (1У-2 + 10Р) + *Kocuria rosea* 7В (2:2:2) та “КПК” *L. casei* (6002 + 6007) + *L. plantarum* 2037 + *Kocuria rosea* М 6-3 (1:1:2:2), здатні до розвитку у м’ясній сировині. Опрацьовано раціональні режимами технологічного процесу промислового виробництва бактеріальних препаратів для ферментування м’ясної сировини: температура ($32 \pm 0,5$) °С, рН 6,2-6,5, тривалість культивування (14 ± 1) год з двостадійним внесення інокуляту і підживленням глюкозою. Все це дозволило отримати з 1 дм³ поживного середовища (7,5- 6,7) г сухого препарату з чисельністю $(7,5-8,7) \cdot 10^{10}$ КУО/г молочнокислих бактерій та $(3,6-5,0) \cdot 10^9$ КУО/г мікрококу. Біотехнологія препарату КПК захищена патентом України на винахід.

12. Встановлено, що додавання бактеріальних препаратів “КПК” та “ЛРР” до м’ясної сировини скорочує тривалість технологічного циклу на 3-4 доби, забезпечує високий ступінь санітарно-епідемічної безпеки готового продукту: відсутність умовно-патогенних, патогенних мікроорганізмів та низький вміст залишкових нітритів, а також гарантує набуття відмінних органолептичних характеристик. Біотехнологія препарату “КПК” захищена патентом України на винахід.

13. Технології інноваційних функціональних біодобавок для сільськогосподарських тварин та бактеріальних препаратів для ферментування м’ясної сировини є перспективними для впровадження на біотехнологічних та м’ясопереробних підприємствах України. За результатами клінічної апробації розроблено та рекомендовано до впровадження у ветеринарну практику пробіотик «ТІММ-С».

14. Експериментальні та дослідно-промислові зразки розроблених функціональних добавок є ефективними в умовах промислових господарствах, що апробовано на практиці, а саме: «БК-Пт» на НВП «УКРВАК»; «БК-П» на ФГ «Вітас іК», ДП «ДГ «Степне» Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН, на свинокомплексі

«Мар'янівський»; «БК –Т» на ФГ «Вітас іК».

Соціальний ефект від впровадження функціональних добавок полягає в опосередкованому оздоровленні людини за рахунок зменшення використання антибіотичних і хіміотерапевтичних препаратів у тваринництві і, як наслідок, обмеження впливу на організм людини шкідливих хімічних речовин, зокрема алергенів, забезпечує отримання екологічно чистої продукції.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Алимов, А.М. Желудочно-кишечные болезни поросят и их профилактика / А.М. Алимов // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2008. – №3. – С. 25.
2. Ангельські, С. Клінічна біохімія / С. Ангельські, З. Якубовські, М. Домінічак // Сопот. – 1998. – 451 с.
3. Андреева, А.В. Нормофлора кишечника поросят при отъемном стрессе / А.В. Андреева, Е.Т. Муратова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – Казань, 2012. – Т. 203. – С. 15-19.
4. Анисимова, И.Г. Ферментационные колбасы с использованием бактериальных препаратов / И.Г. Анисимова, Н.М. Лисицина, О.В. Терешина, Т.И. Солодовникова // Разработка комбинированных продуктов питания: Материалы 4 Всесоюзной научно-технической конференции. – Кемерово. Раздел 3а, 1991. – С. 34-37.
5. Анисимова, И.Г. Разработка технологии производства варено-копченых колбас с применением бакпрепаратов. Качество сырья, основы производства мяса и мясопродуктов / И.Г. Анисимова, А.А. Белоусов, Г.И. Солодовникова [и др.] // Всесоюзн. науч.-исследоват. и конструкторско-аналитический ин-т мясной промышленности. – М.: 1991. – С. 69-80.
6. Антипов, В.А. Симбионтные микроорганизмы пищеварительного тракта, их роль и состав. / В.А. Антипов // Сельское хозяйство за рубежом. – 1989. – № 12. – С. 40-45.
7. Антипова, Л.В. Современные технологии ферментированных мясных продуктов / Л.В. Антипова, В.В. Прянишников // Вестник ВГУИТ. 2015. – №3. – С. 103-112.
8. Антипова, Л.В. Методы исследования мяса и мясных продуктов / Л.В. Антипова, И.А. Глотова, И.А. Рогов. – М.: Колос, 2001. – 376 с.

9. Бабина, М.П. Коррекция иммунного статуса и повышение продуктивности цыплят-бройлеров пробиотиками / М.П. Бабина // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – Горки. – 1998. – С. 294-299
10. Донник, И.М. Анализ дисбиотических нарушений в кишечнике птицы промышленного стада / И.М. Донник // Аграрный вестник Урала. – 2007. – № 6. – С. 36-38.
11. Бажов, Г.М. Эффективность применения целлобактерина в свиноводстве /Г.М. Бажов, Л.А. Бахирева, В.А. Пищулин // Сб. науч. тр. / Краснодарский региональный институт агробизнеса. – Краснодар, 2002. – Вып. 11. – С. 158 –163.
12. Баль-Прилипко, Л.В. Аналитический скрининг путей применения бактериальных препаратов в производстве мясных изделий / Л.В. Баль-Прилипко, Б.И. Леонова // Научный результат. – 2015. – № 3. – С. 37-44.
13. Баль-Прилипко, Л.В. Напрями, досягнення та перспективи біотехнології у харчовій промисловості / Л.В. Баль-Прилипко, М.В. Патика, Б.І. Леонова, Е.Р. Старкова, А.І. Брона // Мікробіологічний журнал. – 2016. – 78(3). – С. 99-111.
14. Баль-Прилипко, Л. В. Зниження вмісту нітриту натрію у варених ковбасах за допомогою денітрифікуючих мікроорганізмів / Л. В. Баль-Прилипко, Б. І. Леонова // BIOTECHNOLOGIA ACTA. – 2015. – V. 8, No 3. – С. 110-115.
15. Банникова, Л.А. Селекция молочнокислых бактерий и их применение в молочной промышленности / Л.А. Банникова. – М.: Пищ. промышленность, 1975. – 225 с.
16. Бараников, В.А. Влияние биологических добавок на резистентность, обмен веществ и продуктивность свиней [электронный ресурс] / В.А Бараников // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского ГАУ. –2016. –No7(121).
17. Бессарабов, Б. Гематологические показатели и здоровье птицы / Б.

Бессарабов, С. Алексеева, Л. Клетикова, О.Копоть // Животноводство России. – 2009. – С. 17-18.

18. Беспоместных, К.В. Изучение влияния состава питательной среды на изменение биохимических и морфологических свойств штаммов лактобацилл / К.В. Беспоместных // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=16600> (дата обращения: 06.09.2016).

19. Бігун, Ю.П. Вплив фітокомпозиції "Вітастимул" на біохімічні властивості крові курей-несучок у різні вікові періоди / Ю.П.Бігун // Збірник наукових праць ВНАУ. – 2011. – № 6 (46). – С. 12-15.

20. Борунова, С.Б. Подбор компонентного состава питательной среды для получения бактериального концентрата болгарской палочки / С.Б. Борунова, Н.Н. Фурик, Н.В. Дудко // Пищевая промышленность: Наука и технология. 2009. – №1(3). – С. 9 – 14.

21. Бовкун, Г.Ф. Аэрогенное применение пробиотиков / Г.Ф. Бовкун // Птицеводство. – 2002. – №4. – С.23-25.

22. Бовкун, Г.Ф. Нормобиоценоз и дисбактериоз молодняка / Г.Ф. Бовкун, Е.П. Ващекин, Н.И. Малик // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2008. – №3 – С. 12-15.

23. Бондаренко, В.М. Пробиотики и механизмы их лечебного действия / В.М. Бондаренко, Р.П. Чуприна, Ж.И. Аладышева, Т.В. Мацулевич // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2004. – № 3. – С. 83-87.

24. Бондаренко, В. М. Пробиотики, пребиотики и синбиотики в терапии и профилактике кишечных дисбактериозов / В. М. Бондаренко, Н. М. Грачева // Фарматека. – 2003. – № 7. – С. 56-63.

25. Борознова, А.С. Коррекция кишечной микрофлоры цыплят-бройлеров пробиотиком «бифидофлорин жидкий» / А.С.Борознова // Ученые записки УО ВГАВМ. – 2010. - т. 46, вып. 2. – С. 21-23

26. Борунова, С.Б. Подбор компонентного состава питательной среды для получения бактериального концентрата болгарской палочки / С.Б. Борунова, Н.Н. Фурик, Н.В. Дудко // Пищевая промышленность: Наука и технология. - 2009. – №1(3). – С. 9 – 14.
27. Бочков, И.А. Применение бактериальных биологических препаратов в практике лечения больных кишечными инфекциями / И.А. Бочков, Н.А. Семина, О.С. Дарбеева // Методические рекомендации. – М., 1988. – С. 8-13.
28. Брилис, В. И. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов / В. И. Брилис, Х. П. Ленцер, А. А. Ленцер // Лаб. дело. – 1989. – № 4. – С. 210–212.
29. Бровко, О. Г. Товарознавство. Продовольчі товари: навчальний посібник / О. Г. Бровко, О. В. Бумакова, В. В. Дятлов. – К.: Кондор. – 2010. – 730 с.
30. Бурень, В.М. Микробиологические пробиотики повысят сохранность животных / В.М. Бурень, Д.С. Давидюк, Д.В. Донченко // Сельскохозяйственные вести. — 2002. —№ 3. — С. 16.
31. Бурцева, Г.В. Дослідження нітритредуктазної активності коагулазонегативних стафілококів / Г.В. Бурцева, Ц.О. Король, С.Г. Даниленко. // Тези доповідей XII з'їзду Товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського (25-30 травня 2009 р., м. Ужгород,). – Ужгород., 2009. – С. 361.
32. Бурцева, А.В. Создание стартерных бактериальных композиций для ферментированных мясных продуктов / А.В. Бурцева, С.Г. Даниленко. // «Биология. Наука XXI века» 15 Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых. 2011 Сборник тезисов. - Пущино – С. 278-279
33. Бурцева, Г.В. Вплив бактеріального препарату «МКС» на протеоліз у сиров'ялених м'ясних продуктах / Г.В. Бурцева, С.Г. Даниленко, Н.Ф. Кігель, Я.Ф. Жукова. // Вісник Львівського університету (Серія біологічна). – 2011. – № 57. – С. 200-206.

34. Бурцева, Г.В. Вплив заквашувальної композиції на біохімічні процеси у ціЛЬНОМ'ЯЗЕВИХ сиров'ялених виробках./ Г.В. Бурцева, С.Г. Даниленко. // «Молодь і поступ біології» (21-24 вересня 2010 р., м. Львів) Збірник тез VI Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів.: Л.: ЛНУ. – С. 146-147
35. Бурцева, Г.В. Новий бактеріальний препарат для виробництва ферментованих м'ясних продуктів / Бурцева, Г.В., Даниленко С.Г. // “Новітні технології, обладнання, безпека та якість харчових продуктів: сьогодення та перспективи”: Матеріали міжнародної науково-практичної конференції (27-28 вересня 2010 р., Київ). – К.: НУХТ. – ч. 2. - С.26
36. Патент України № 95422 Спосіб одержання бактеріального препарату «МКС» для виробництва ферментованих м'ясних продуктів /Бурцева Г.В., Король Ц.О., Даниленко С.Г., Кігель Н.Ф., Заявл. 12.10.2010, Опубл. 25.07.2011, Бюл. №14, 2011 р.
37. Васильев, А.В. Влияние пробиотиков на продуктивность цыплят-бройлеров и формирование кишечного микробиоценоза / А.В. Васильев, С.Н. Лысенко // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. – 2008. – № 6. – С. 34-37.
38. Вінникова, Л.Г. Вплив молочнокислих бактерій на поверхневу мікробіоту м'яса / Л.Г. Віннікова, Г.В. Ямборко, А.В. Кишеня // Харчова наука і технологія. – 2015. – V. 9, № 3. – С. 31-35
39. Патент на корисну модель 87101 Україна, МПК А 61 К 35/74.Кисломолочна кормова добавка „тибетський грибок”для нормалізації кишкової мікрофлори поросят / Вічко О.І., Червецова В.Г., Новіков В.П., Кухтин М.Д. – № u201308248; заявл. 1.07.2013; опубл. 27.01.2014, Бюл. №2.
40. Вічко О.І. Мікробіологічна характеристика пробіотичної кисломолочної добавки з асоціації культури „тибетський грибок” та вплив її на кишковий мікробіоценоз поросят / О.І. Вічко, М.Д. Кухтин, В.П. Новіков // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної

медицини та біотехнології імені С.З. Гжицького. Серія „Харчові технології”. – 2014. – Т 16, № 2(59), Частина 4. – С.20-25.

41. Власенко, В.В. Дослідження впливу стартових культур на швидкість утворення молочної кислоти на етапі осадки сировокопчених ковбас / В.В. Власенко, С.В. Крижак // Збірник наукових праць Вінницького національного аграрного університету. – 2015. – №1 (89). – Том 2. – С. 47-50.

42. Влізло, В.В. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / В.В. Влізло, Р.С. Федорук, І.Б. Ратич [та ін.]; За ред. В.В. Влізла. – Львів: Сполом, 2012. – 764 с.

43. Воробьева, Л.И. Пропионовокислые бактерии / Л.И. Воробьева. – М.: МГУ, 1995 – 288 с.

44. Воронин, Е.С. Иммунология / Е.С. Воронин [и др.]. - М.: Колос - Пресс, 2002. - 406 с.

45. Гадзевич, Д. В. Видовий склад мікрофлори шлунково-кишкового тракту великої рогатої худоби, хворої на ентерит. / Д. В. Гадзевич, Ю. К. Дунаєв, О. В. Горбенко, О. В. Гадзевич, С. І. Вовк // Ветеринарна медицина. – 2012. – Вип. 96. – С. 99-102.

46. Гарда, С.О. Дослідження мікрофлори м'яса / С.О. Гарда, Н.Ф. Кігель, С.Г. Даниленко. // «Біотехнологія ХХІ століття» V Регіональна науково-практична конференція викладачів, науковців, аспірантів, молодих вчених та студентів (26 квітня 2011, м. Київ): К.: НТУУ «КПІ». – С. 48.

47. Гарда, С.О. Скринінг біфідофлори сільськогосподарської птиці / С.О. Гарда, С.Г. Даниленко, І.В. Панасюк, Г.С. Литвинов // «Біотехнологія ХХІ століття»: тези доповідей VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченій 200 річниці з дня народження Т. Г. Шевченка (Київ, 25 квітня 2014 року) / Міністерство освіти і науки України, Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут». – К.:НТУУ «КПІ», 2014. – С. 22-23.

48. Гарда, С.А. Изучение биотехнологических свойств штамма

Lactobacillus paracasei ssp. paracasei / С.А. Гарда, С.Г. Даниленко, И.В. Панасюк. //Тезисы докладов Школа-конференция молодых ученых Россия, «Биосистема: от теории к практике» Пущино, 24-25 октября 2013 г. – с. 28-29

49. Гарда, С.О. Визначення стійкості до антибіотиків перспективних штамів для пробіотиків / С.О. Гарда, С.Г. Даниленко, Г.С. Литвинов. // Наукові вісті НТУУ "КПІ". – 2013. – № 3. – С. 24-27

50. Гарда, С.А. Скрининг микрофлоры сельскохозяйственной птицы / С.А. Гарда, С.Г. Даниленко, Г.С. Литвинов // Закономерности функционирования природных и антропогенно трансформированных экосистем: Материалы Всероссийской научной конференции. (г. Киров, 22–23 апреля 2014 г.). Киров: Изд-во ООО «ВЕСИ», 2014. – С.275-278

51. Гарда, С.А. Скрининг бифидо- и лактофлоры сельскохозяйственной птицы / С.А. Гарда, С.Г. Даниленко // Птица и птицепродукты. – 2015. - № 2 - с. 50-52

52. Гарда, С.О. Пробиотичні властивості мікроорганізмів / С.О. Гарда, С.Г. Даниленко, І.В. Панасюк. //Матеріали ІХ Міжнародної науково-практичної конференції «Наука в інформаційному просторі» (10–11 жовтня 2013 р.) т.4 Наукові публікації біолого-медичного напрямку, психології та фізичного розвитку людини Дніпропетровськ. – Біла К.О. - с. 28-31

53. Гарда, С.О. Визначення стійкості технологічно важливої мікрофлори птахів до кокцидіостатиків / С.О. Гарда, С.Г. Даниленко, Г.С. Литвинов // Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. – 2014. - т.16. - №3 (60)– С.86-90.Серія «ветеринарні науки»

54. Гарда, С.О. Дослідження активності кислотоутворення штамів / С.О. Гарда, Л.М. Коваленко, С.Г. Даниленко, Г.С. Литвинов // Біотехнологія: звершення та надії: збірник тез ІІІ Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених (15-16 травня 2014, м. Київ). – Київ: ВЦ НУБіП України. – С. 17-18

55. Гарда, С.О. Вплив різних доз функціональної добавки в

комбікормах на продуктивність курчат-бройлерів / С.О. Гарда, С.Г. Даниленко // «Продовольчі ресурси: Проблеми і перспективи» : зб. наук. праць за матеріалами III Міжнар. Наук.-практ. конф., Секція 1 «Інноваційні біотехнології та обладнання в харчовій промисловості». 4 лист. 2015. / Інститут продовольчих ресурсів НААН України. – К. : ННЦ ІАЕ. – 2015. – С. 44-46

56. Гарда, С.О. Особливості біотехнології комплексного лактобіфідопробіотику: визначення впливу раціональної дози на продуктивність курчат-бройлерів. / С.О. Гарда, С.Г. Даниленко, Т.М. Рижкова, Г.С. Литвинов // Наукові вісті НТУУ "КПІ" 2017. – № 3. – С. 12-18.

57. Герхард, Ф. Методы общей бактериологии. В 3 томах / Под. ред Ф. Герхард и др.; пер. с англ. – М.: Мир, 1984. – 1270 с.

58. Гласкович, М.А., Ходырева И.А. Пробиотики «БИОХЕЛП» и «ЛАКТИМЕТ» в кишечном биоценозе молодняка свиней / М.А. Гласкович, И.А. Ходырева // Ученые записки учреждения образования "витебская ордена "знак почета" государственная академия ветеринарной медицины. – 2013. – № 1-1, т. 49 – С. 104-107.

59. Головач, Т.Н. Культивирование молочнокислых бактерий в питательных средах на основе гидролизатов белков молока / Т.Н. Головач // Труды БГУ. – 2010. – Т. 5. – Ч. 1. – С. 118–126.

60. Гончарова, Г.И. Бифидофлора человека и необходимость ее оптимизации / Г.И. Гончарова // В кн.: Бифидобактерии и их использование в клинике, медицинской промышленности и сельском хозяйстве. – М., 1986. – 119 с.

61. Грачева, И.В. Механизмы повреждений бактерий при лиофилизации и протективное действие защитных сред / И.В.Грачева, А.В.Осин // Проблемы особо опасных инфекций. 2016. – №3. – С.5-12.

62. Грибан, В.Г. Клінічна біохімія тварин / В. Г. Грибан, В. О. Чумак, В. І. Немировський. – Дніпропетровськ, 2001. – 160 с.

63. Грищук, А. В. Використання препарату Біо-Мос для поросят після

відлучення [Електронний ресурс] / А. В. Гришук. // Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України. - 2013. – № 4. – Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nd_2013_4_13.

64. Гушин, В.В. Выход отечественной птицепродукции на международные рынки: задача и пути ее решения / В.В. Гушин // Птица и птицепродукты. – 2011. – №2. – С.31-33.

65. Гушин, В.В. Определение мясных индексов качества потрошенных тушек цыплят-бройлеров и их частей / В.В. Гушин, В.Н. Махонина // Птица и птицепродукты. – 2010. – № 6. С. 50-53

66. Даниленко, С. Визначення антибіотикостійкості промислових культур / С. Даниленко, Г. Бурцева, С. Гарда. // «Механізми реалізації стратегії розвитку національної економіки» (20-21 жовтня 2011 р. Тернопіль) Міжнародна науково-практична Інтернет – конференція С.46-49

67. Даниленко, С. Для колбас сырокопченых и сыровяленых. Заквасочные культуры в мясном производстве / С. Даниленко. // Мир продуктов. – 2012. – 6 (85). – с. 38-40.

68. Даниленко, С.Г. Поиск и подбор штаммов микроорганизмов, перспективных для посола мясных продуктов. / С.Г. Даниленко, И.В. Панасюк, Л.Н. Коваленко. // Пищевые инновации и биотехнологии: сборник материалов конференции студентов, аспирантов и молодых ученых / под общ. ред. А.Ю. Просекова; ФГБОУ ВПО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности». – Кемерово, 2013. – с. 150-154

69. Даниленко, С.Г. Скринінг молочнокислих бактерій за антагоністичною активністю / С.Г. Даниленко, С.О. Гарда, І.В. П // Біотехнологія ХХІ століття: тези доповідей VII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 115 річниці заснування НТУУ «КПІ» (Київ, 24 квітня 2013)/ міністерство освіти і науки, Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут». – К.: НТУУ «КПІ», 2013. – с. 24-25

70. Даниленко, С.Г. Каталазна активність селекціонованих стафілококів та мікрококів / С.Г. Даниленко, І.В. Панасюк, Л.М. Коваленко Біотехнологія ХХІ століття: тези доповідей VII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 115 річниці заснування НТУУ «КПІ» (Київ, 24 квітня 2013)/ міністерство освіти і науки, Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут». – К.: НТУУ «КПІ», 2013. – с. 29-30
71. Даниленко, С.Г. Пробиотический препарат для птицы / С.Г. Даниленко, С.А. Гарда. // Молодеж и инновации -2013: Материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых. В 4- ч./ Гл. Ред. А.П. Курденко. – Горки: Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, 2013. – ЧЗ. с. -200-203
72. Даниленко, С.Г. Властивості штамів мікроорганізмів *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* та *Bifidobacterium longum subsp. suis* / С.Г. Даниленко // Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. – 2013. - т. 15. - № 1 (55). – с. 296-301
73. Даниленко, С.Г. Дослідження якісного та кількісного складу мікрофлори розсолів / С.Г. Даниленко, Л.М. Коваленко, І.В. Панасюк, Л. П. Недорізанюк. // Наукові праці НУХТ. - 2013. - № 49. – с. 45-49
74. Даниленко, С.Г. Опрацювання складу поживного середовища для нагромадження біомаси заквашувальної композиції “ЛРР”. / С.Г. Даниленко, Ц.О. Король, Л.М. Коваленко // Materiały ix międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji «nauka i inowacja-2013» 07-15 października 2013 roku Volume 15 Nauk biologicznych, Weterynaria . – Przemyśl.: Nauka i studia . – p. 19-22
75. Даниленко, С.Г. Біотехнологія бактеріального препарату ЛЛР / С.Г. Даниленко// Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. – 2013. – т.15. - № 3 (57), частина 4. – с. 55-62
76. Даниленко, С.Г. Підбір поживного середовища для нагромадження

Lactobacillus paracasei ssp. paracasei / С.Г. Даниленко, І.В. Панасюк, В.С. Войцехівська, С.О. Гарда. // *Тези доповідей II Міжнародна науково-практична конференція «Новітні досягнення біотехнології» 24-25 жовтня Київ – с. 43-44.*

77. Даниленко, С.Г. Выживаемость *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* при криоконсервации / С.Г. Даниленко, С.А. Гарда, И.В. Панасюк. // Сборник научных трудов SWorld. – Выпуск 3. Том 43 – Иваново: МАРКОВА АД, 2013. – ЦИТ:313-1053 – С. 73-75

78. Даниленко, С.Г. Вплив лактобактерій на спонтанну мікрофлору м'яса / С.Г. Даниленко, Н.Ф. Кігель. // *Продовольчі ресурси: зб. наук. пр. / НААН України; Ін-т прод. ресурсів НААН України. – К.: Ін-т прод. ресурсів НААН України, - № 1. – с. 50-57*

79. Даниленко, С.Г. Вплив ферментного препарату на протеолітичні процеси у сиров'ялених м'ясних продуктах / С.Г. Даниленко // *Товари і ринки. – 2013. – №2. – С. 107-114.*

80. Даниленко, С.Г. Визначення рівня контамінації *Yersinia enterocolitica* м'ясної сировини та молока / С.Г. Даниленко, Г.В. Козловська, Ф.Ж. Ібатулліна. // *Індустрія АПК – 2013. - № – 6. – с. 29-31*

81. Даниленко, С.Г. Мікрофлора м'ясних розсолів / С.Г. Даниленко, І.В. Панасюк, Л. П. Недорізанюк. // *Харчова наука і технологія. – 2013. - № 4 (25)'. – с. 43-45.*

82. Даниленко, С.Г. Дослідження впливу преміксів ФІЗ та Три-Сол на розвиток штамів молочнокислих та біфідобактерій / С.Г. Даниленко. // *Індустрія АПК – 2014. - № 1. – с.28-32.*

83. Даниленко, С.Г. Вплив ефірних олій на технологічно важливу мікрофлору / С.Г. Даниленко, І.В. Панасюк., С.О. Гарда // *Вісник аграрних наук. – 2014. – № 3. – С.64-67.*

84. Даниленко, С.Г. Дослідження впливу мультивітамінного комплексу на ріст штамів *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* / С.Г. Даниленко, Л.М. Коваленко, С.О. Гарда. // *Materiály X mezinárodní vědecko -*

praktická konference «Dny vědy – 2014». - Díl 27. Biologické vědy.: Praha. Publishing House «Education and Science» s.r.o – s. 55-58.

85. Даниленко, С.Г. Дослідження впливу інуліну на ріст штамів лактобацил / С.Г. Даниленко, Л.М. Коваленко // «Біотехнологія ХХІ століття»: тези доповідей VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченій 200 річниці з дня народження Т. Г. Шевченка (Київ, 25 квітня 2014 року) / Міністерство освіти і науки України, Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут». – К.:НТУУ «КПІ», 2014. – С. 28-29

86. Даниленко, С.Г. Створення функціональної добавки БК-П / С.Г. Даниленко // Технологический аудит и резервы производства . - 2014 — № 3/5(17) - С. 34-36

87. Даниленко, С. Функціональна добавка БК-П для годування поросят / С. Даниленко // Продовольча індустрія АПК – 2014. - № 2. – с.40-42

88. Даниленко, С.Г. Селекція молочнокислих бактерій з некомерційних м'ясних продуктів / С.Г. Даниленко // Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. – 2014. - т. 16. - № 2 (59). – с. 43-47

89. Даниленко, С.Г. Особенности использования бактериального препарата при посоле мясного сырья / С.Г. Даниленко // Актуальные проблемы развития общественного питания и пищевой промышленности: Материалы международной научно-практической конференции профессорско-преподавательского состава и аспирантов. 10 апреля 2014 года. – Белгород: Издательство БУКЭП, 2014. – С. 335-340

90. Даниленко, С.Г. Оцінка пробіотичного потенціалу штамів молочнокислих бактерій / С.Г. Даниленко // Сборник научных трудов SWorld. – Выпуск. 2, Том 8– Иваново: МАРКОВА АД, 2014. — С. 99-102

91. Даниленко, С.Г. Добір мікроорганізмів для ферментації м'ясної сировини / С.Г. Даниленко, Н.Ф. Кігель, Г.В. Бурцева // Biotechnologia Acta – 2014. – Т.7, № 4. – С. 107-117.

92. Даниленко, С.Г. Яловичини буде більше, якщо корми з функціональною добавкою / С.Г. Даниленко // Індустрія АПК – 2014. – № 3. – С.28-31
93. Даниленко, С.Г. Скринінг молочнокислих мікроорганізмів за нітритредукуючою активністю / С.Г. Даниленко // Наукові праці НУХТ. – 2014. – №. 5, т. 20– С. 35-40
94. Даниленко, С.Г. Дослідження впливу різних фізико-хімічних факторів на життєздатність молочнокислих бактерій / С.Г. Даниленко // Продовольчі ресурси : зб. наук.пр. / НААН України; Ін-т прод. Ресурсів НААН України. К.: ННЦ «ІАЕ», 2014. - № 3. – С. 130-134
95. Даниленко, С.Г. Исследование закономерностей функционирования бактериального препарата в мясном сырье / С.Г. Даниленко // Продовольчі ресурси : проблеми і перспективи: зб. наук. праць за матеріалами II Міжнар. наук.-практ. конф., Секція 1 «Сучасні ресурсозберігаючі технології в харчовій промисловості. Безпечність та якість харчових продуктів», 11 лист. 2014 р / Інститут продовольчих ресурсів НААН України. – К.: ННЦ«ІАЕ». – 2014. – С. 206-209.
96. Даниленко, С.Г. Використання новоствореної бактеріальної композиції у виробництві м'ясних продуктів / С.Г. Даниленко, Л.П. Недорізанюк // Продовольча індустрія АПК. – 2014. - № 6. – 29-33
97. Даниленко, С.Г. Зберігання культур молочнокислих мікроорганізмів / Даниленко С.Г. // Наукові праці НУХТ. - 2015 – т. 21, № 1. – с. 28-32
98. Даниленко, С.Г. Визначення гострої токсичності експериментальної функціональної добавки / Даниленко С.Г. // Збірник наукових праць Вінницького національного аграрного університету. Серія: Технічні науки. – 2015. – В. 1 (89) Том 1. – С. 100-104.
99. Даниленко, С. Оцінювання пробіотичного потенціалу біологічно активних штамів, вилучених із природних джерел / С. Даниленко, С. Гарда, О. Потемська // Програма і матеріали четвертої міжнародної науково-технічної конференції «Перспективи розвитку м'ясної, молочної та

олієжирової галузей у контексті євроінтеграції», 24 — 25 березня 2015 р. — К.: НУХТ, 2015р. — 187-188

100. Даниленко, С.Г. Адгезивна властивість біфідобактерій / С.Г. Даниленко, О.І. Потемська, С.О. Гарда // «Біотехнологія ХХІ століття»: тези доповідей ІХ Всеукраїнської науково-практичної конференції присвяченій 170 річниці від дня народження Іллі Мечнікова (Київ, 24 квітня 2015 р.)/Міністерство освіти і науки України, Національний технічний університет України «КПІ», Національна академія наук України, Інститут клітинної біології та генетичної інженерії. К.: НТУУ «КПІ», 2015 – С. 35

101. Патент 109078 України, МПК7 С12N1/2, А61R35/75, А23К1/165 Штам бактерій *Lactobacillus paracasei*, що використовується у виробництві пробіотичних препаратів для сільськогосподарської птиці / Даниленко С. Г., Гарда С.О., Кігель Н.Ф.; заявник та патентовласник Інститут продовольчих ресурсів НААН - № а201403335 ; заявл. 02.04.14; опубл. 10.07.15, Бюл. № 13.

102. Патент України № 109097 Спосіб одержання бактеріального препарату “КПК” для виробництва ферментованих м’ясних продуктів / Даниленко С. Г., Кігель Н. Ф., Король Ц. О., Семенівська О. А. Заявл. 16.10.2014, Опубл. 10.07.2015, Бюл.№ 13, 2015 р – 9 с.

103. Патент 109098 України, МПК7 С12N1/2, А61R35/75, А23К1/165 Штам бактерій *Lactobacillus rhamnosus*, що використовується у виробництві функціональних добавок для сільськогосподарських тварин та птиці / Даниленко С.Г., Кігель Н.Ф.; заявник та патентовласник Інститут продовольчих ресурсів НААН - № а20141127 ; заявл. 16.10.14; опубл. 10.07.15, Бюл. № 13.

104. Даниленко, С.Г. Застосування функціональної добавки БК-Пт при вирощуванні курчат-бройлерів / С.Г. Даниленко, С.О. Гарда // Продовольчі ресурси : зб. наук.пр. / НААН України; Ін-т прод. Ресурсів НААН України. К.: ННЦ «ІАЕ», 2015. - № 4. – С. 117-122.

105. Патент UA № 112353 МПК С12N 1/20 (2006.01); С12R 1/225 (2006.01); С12R 1/46 (2006.01) Спосіб консервування біомаси

заквашувальних культур / Даниленко С.Г., Кігель Н.Ф., Семенівська О.А. а 2014 12500 від 27.04.2015, Бюл.№8; від 25.08.2016, Бюл. №16

106. Даниленко, С.Г. Визначення бактеріальної якості продуктів тваринного походження / С.Г. Даниленко, І.В. Панасюк, К.В. Копилова, Т.А Крижська // Продовольчі ресурси : зб. наук. пр. / НААН України; Ін-т прод. Ресурсів НААН України. К.: ННЦ «ІАЕ», 2017. – № 8. – С. 36-41.

107. Даниленко, С.Г. М'ясо та м'ясні продукти. Організація та методи мікробіологічних досліджень (ДСТУ 8381:2015) / С.Г. Даниленко, Н.Ф. Кігель, Г.В. Козловська, І.В. Панасюк. – [Чинний від 2017 – 01 – 07]. – К.: Держспоживстандарт України, 2015. – 48 с.

108. Патент UA № 116253 МПК A23K 50/70 A23K 10/16 (20116/01); C12N 1/20 (2006.01); C12R 1/01 (2006.01); C12R 1/225 (2006.01); C12R 1/25 (2006.01) Спосіб одержання бактеріального концентрату "БК-Птиця" для кормових продуктів Даниленко С.Г., Гарда С.А. а 2016 01120 від 10.08.2016, Бюл. №15; від 26.02.2018, Бюл. №4

109. Джорджевич, В.В. Влияние нитритов на некоторые свойства мясных продуктов и значение отдельных факторов в их остаточном содержании / В.В. Джорджевич, Н.И. Радович // Материалы международного симпозиума "Нитриты и качество мясных продуктов". – Варна. – 1981. – С.54

110. Долгов, В.С. Использование пробиотика Нормофлора свиноматкам и пороссятам / В.С. Долгов // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2011. – № 12 (86). – С. 60-62

111. Дорофейчук, В.Г. Лизоцимная активность сыворотки крови / В.Г. Дорофейчук // Лабораторное дело. – 1968. – №1. – С. 28-34.

112. Егоров, Н.С. Бактериоцины. Образование, свойства, применение / Н.С. Егоров, И.П. Баранова // Антибиотики и химиотерапия. – 1999. – №6. – С. 33-40.

113. Егоров, Н.С. Основы учения об антибиотиках: Учебник. 6-е изд., перераб. и доп. / Н.С. Егоров – М.: Издательство МГУ; наука, 2004. – 528 с.

114. Егоров, И.А. Пробиотик «Терацид-С» в комбикормах для

бройлеров без антибиотиков / И.А. Егоров, Ш.А. К.В. Имангулов, Харламов, П.Н. Паньков, Б.Л. Розанов, Т.В. Егорова, В.Д. Харитонов, Е.В. Райдна // Птица и птицепродукты. –2007. – №3. – С. 35-36.

115. Егоров, Н.С. Микробы-антагонисты и биологические методы определения антагонистической активности / Н.С. Егоров – М.: Высшая школа, 1975. – 209 с.

116. Егоров, И.А. Развитие новых направлений в области селекции, кормления и технологии бройлерного птицеводства / И.А. Егоров, В.С. Буяров // Вестник Орел ГАУ. – 2012. – №6. – С.17-23.

117. Еранов, А.М. Микродобавки селена и йода как средство стимулирования мясной продуктивности цыплят-бройлеров / А.М. Еранов [и др.] // Сибирский вестник. - 2008. - № 2. - С. 77-80.

118. Пат. 74726 Україна, МПК С 12N 1/20, А 22 С 11/00 Спосіб одержання бактеріального препарату “Лакмік” для виробництва м’ясних продуктів / Єресько Г. О., Король Ц. О., Даниленко С. Г., Кігель Н. Ф. – № 20040604684; Заявл. 15.06.2004; Опубл. 16.01.2006, Бюл. №1. – 10 с.

119. Єресько, Г.О. Молоко та молочні продукти. Методи мікробіологічного аналізування (ДСТУ 7357:2013) / Г.О. Єресько, С.Г.Даниленко, Н.Ф.Кігель. – [Чинний від 2014 – 01 – 01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2014. – 38 с.

120. Єресько, Г.О. Молоко, молочні продукти та закваски. Метод визначання кількості біфідобактерій. (ДСТУ 7355:2013) / Г.О.Єресько, С.Г.Даниленко, Ц.О. Король, Н.Ф. Кігель, Г.Г. Борщ. [Чинний від 2014 – 01 – 01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2014. – 18 с.

121. Жила, М. І. Фармакологічні властивості пробіотичних кормових добавок та їх вплив на продуктивність поросят при відгодівлі / М. І. Жила, Т. Р. Левицький, І. М. Кушнір // Науково-технічний бюлетень Інституту 119 біології тварин, ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – Львів. – 2014. – Вип. 15. – № 1. – С. 158-163

122. Жила, М.І. Гістологічна структура окремих внутрішніх органів поросят при застосуванні пробіотичних кормових добавок / М.І. Жила // Біологія тварин. – 2015. – Т. 17, № 1. – С. 55-61.

123. Патент UA № 117082 МПК C12N 15/11 (2006.01); C12Q 1/04(2006.01); C12Q 1/68 (2018.01); G01N 33/02 (2006.01); C12R 1/23 (2006/1) Спосіб визначення культури *Lactobacillus acidophilus* за допомогою пари специфічних олігонуклеотидних праймерів методом полімеразної ланцюгової реакції Жукова Я.Ф., Вакуленко М.М., Даниленко С.Г. а 2017 08391 від 15.08.2017, від 26.02.2018, Бюл. № 4; від 11.06.2018, Бюл. № 11

124. Журавская, Н.К. Исследование и контроль мяса и мясопродуктов / Н.К. Журавская, Л.Т. Алехина, Л.М. Отряшенкова. – М.: Агропромиздат, 1985. – 296 с.

125. Заиграева, Л.И. Влияние стартовых культур на дозу вносимого нитрита / Л.И. Заиграева, И.С. Хамагаева // Тез. докл Прогресс. Экологическая безопасность. Технология. Хранение и комплексная переработка сельскохозяйственной продукции для создания продуктов питания повышенной пищевой и биологической ценности, Углич, 1-4 октября 1996. – С. 41.

126. Заиграева, Л.И. Изучение возможности использования пропионовокислых бактерий при посоле мясного сырья / Л.И. Заиграева, Є.Д. Парпаев, Л.Л. Никифорова, Н.В. Островская // Межрегиональный постояннодействующий научно-технический семинар «Экологическая безопасность России», Пенза, 27-28 апреля. 2000 – С.106-107.

127. Заиграева, Л.И. Технология производства варено-копченой колбасы с использованием стартовых культур / Л.И. Заиграева, И.С. Хамагаева, Ц.Б. Дугаров // Сб. науч. тр. Сер. Технология и биотехнология пищевых и кормовых продуктов, Улан-Удэ, Изд-во ВСГТУ, 1996. – Вып. 3. – С. 40-44.

128. Заиграева, Л.И. Улучшение качества мясного сырья при посоле / Л.И. Заиграева, И.С. Хамагаева, Л.Л. Никифорова, Н.В. Островская // Мясная

промышленность. Экспресс-информ / ЦНИИТЭИ мясомолпром. – 2001. – С. 45.

129. Запруднов А. М. Микробная флора кишечника и пробиотики : метод. пособие / А. М. Запруднов, Л. Н. Мазанкова – М. : Ферросан, 2001. – 32 с.

130. Зінов'єв, С.Г. Вплив мікроорганізмів на якість та поживність кормів / С.Г. Зінов'єв // Український біохімічний журнал. Матеріали VIII Українського біохімічного з'їзду. – Чернівці, 2002. – Т. 74, № 46 – С. 156-157.

131. Зинина, О.В. Технологические приемы модификации коллагенсодержащих субпродуктов / О.В. Зинина, М.Б. Ребезов // Мясная индустрия. – 2012. – № 5. – С. 34-36.

132. Зинченко, Е.В. Практические аспекты применений пробиотиков / Е.В. Зинченко, А.Н. Панин, В.А. Панин // Ветеринарный консультант. – 2003. – № 3. – С. 12-14.

133. Злепкин, Д.А. Качественные показатели мяса цыплят-бройлеров при использовании в рационах рыжикового жмыха в сочетании с ферментными препаратами / Д.А. Злепкин, Т.С. Колобова // Известия нижеволжского агроуниверситетского комплекса.- 2013. - № 4 (32). – С. 1-4

134. Злобин, С.В. Пробиотики серии Субтилис в интенсивном свиноводстве / С.В. Злобин // Зоотехния. -№ 11, 2008.- С. 21-22.

135. Игнатьев, А.Д. Модификация метода биологической оценки пищевых продуктов с помощью реснитчатой инфузории *Tetrachimena pyriformis* / А.Д. Игнатьев, М. Исаев // Вопросы питания. – 1980. – №1. – С. 70-71.

136. Каблучеева, Т.И. Влияние микрофлоры на переваривание углеводов в кишечнике птицы при разном уровне протеина в рационе / Т.И. Каблучеева // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2007. – № 3. – С.82-84.

137. Калініченко, С. В. Сучасні напрямки створення та удосконалення пробіотиків / С. В. Калініченко, О. О. Коротких, І. Ю. Тіщенко // Український біофармацевтичний журнал. – 2016. – № 1(42). – С. 4-9
138. Каленик, Т.К. Сырокопченные мясопродукты, обогащенные биологически активными ингредиентами / Т.К. Каленик, Л.А. Текутьева, О.М. Сон, В.А. Невзорова, Н.В. Гаврилова, Е.В. Моткина // Пищевая промышленность. – 2009. – №10. – С. 64-65.
139. Калоев, Б. Оптимизация микрофлоры кишечника у цыплят и кур / Б. Калоев // Птицеводство. – 2003. - №3. – С.11.
140. Камінська, М.В. Мікрофлора травного тракту сільськогосподарської птиці: склад, основні функції, причини та наслідки порушень / М.В.Камінська // Птахівництво: міжвідомч. наук. тем. зб. – 2010. – Вип. 65. – С. 14-25
141. Кейтс, М. Техника липидологии / М. Кейтс – М: Мир, 1975. – С. 84-85.
142. Кігель, Н. Новий бактеріальний препарат “Біфідин” для тварин та його біологічні властивості / Н. Кігель // Ветеринарна медицина. – 1999. – № 10. – С. 8-9.
143. Кишенько, І.І. Стартові культури для ферментації сирокочених ковбас / І.І. Кишенько, О. А. Топчій, Ю. П. Крижова, О. І. Рибачук // Харчова наука і технологія. 2014. – 3(28). — С.23-26.
144. Клетикова, Л. Бифитрилак при вирощуванні цыплят / Л. Клетикова, О. Копоть, С. Алексеева // Птицеводство. – 2007. – №10. – С. 22.
145. Клычкова М.В. Влияние пробиотика лактоамиловарина на рост и развитие утят-бройлеров / М.В. Клычкова // Известия ОГАУ. – 2004. – № 3. – С. 151-152.
146. Князева, Н.Ю. Технологические приемы получения микробного препарата целлобактерина / Н.Ю. Князева, Н.Н. Гаврилова, Б.В. Тараканов // Биологические основы высокой продуктивности с.-х. животных. – Боровск, 1990.– Ч.2. – С. 121-122.

147. Коваленко, Л. Підбір поживного середовища для нагромадження лактобактерій / Л. Коваленко, С. Гарда, С. Даниленко. // Програма і матеріали 80 міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів “Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у ХХІ столітті”, 10–11 квітня 2014 р. – К.: НУХТ, 2014 р. – Ч.1. – с.612-614

148. Коваленко, В.М. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів. Методичні рекомендації / В.М. Коваленко, О.В. Стефанов, Ю.М. Максимов – К., 2000. – С.74-97.

149. Коваленко, В.М. Микробный пейзаж кишечника телят в норме и при дисперсии / В.М. Коваленко, О.В. Стефанов, Ю.М. Максимов Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2017. – №5. – С. 137-140.

150. Коваленко, Л.М. Визначення видової належності штамів мікроорганізмів, виділених з ферментованого м'ясного продукту / Л.М. Коваленко, С.Г. Даниленко. // 79 міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді — вирішенню проблем харчування людства у ХХІ столітті», 15 – 16 квітня 2013 р. — К.: НУХТ, 2013 р. — Ч. 1. — с. 684-686.

151. Козловська, Г.В. Антагоністичні та адгезивні властивості біфідобактерій, виділених від телят / Г.В. Козловська, С.Г. Даниленко, В.Г. Скибіцький. // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. – 2011. – Т. 13 № 4(50), Ч. 1. - С. 77-81

152. Козловська, Г.В. Підбір захисних середовищ у процесі ліофілізації штамів біфідо- та лактобактерій / Г.В. Козловська, С.Г. Даниленко, Ф.Ж. Ібатулліна // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія «Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва» – 2012. – т.172 ч.4. С. 30-33.

153. Козловский Е.Ю. Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта и пути их коррекции / Е. Ю. Козловский [и др.] // Кролиководство и звероводство. 2013. - № 4. - С. 24–28
154. Колесникова, И.А. Влияние микронутриента и пробиотика на мясную продуктивность и качество мяса цыплят-бройлеров / И.А. Колесникова // Инновации в науке: сб. ст. по матер. LIII междунар. науч.-практ. конф. № 1(50). Часть I. – Новосибирск: СибАК, 2016. – С. 6-11.
155. Королюк, М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С. 16-18.
156. Кондрахин, И.П. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии / И.П. Кондрахин, Н.В. Курилов, А.Г. Малахов [и др.] – Справочное издание. – М.: Агропромиздат, 1985. – 287 с.
157. Конников, А.Г. Производство колбас и мясокопченостей / А.Г. Конников, А.П. Богатырёв Москва: Пищепромиздат, 1961. – 479 с.
158. Коновалова Л.В. Влияние полимиксина М на накопление липидов и полифосфатов клетками *R. shermanii* / Л.В. Коновалова, Л.И. Воробьева // Научн. докл. Высшей школы. Биол. науки. – 1972. – №7. – С. 101-104.
159. Конюхов, Е.Е. Мясные качества бройлеров с повышенной живой массой / Е.Е. Конюхов, М.А. Лысенко, Т.А. Столляр // Мясная индустрия. — 1999 — № 4 — С. 31–32.
160. Копоть, О.В. Использование тканевых, органических и минеральных препаратов для повышения естественной резистентности телят / О.В. Копоть, В.М. Обуховский, А.П. Свиридова, С.Л. Поплавская, И.Н. Фомкина // Сельское хозяйство - проблемы и перспективы. – Гродно, 2010. – Том 2. –Агрономия. Ветеринария. – С.184-189.
161. Король, Ц.О. Вплив складу живильного середовища на протеолітичну активність бактеріального концентрату ЛАК-2 / Ц.О. Король, Л.О. Ландик, С.Г. Даниленко, Н.Ф. Кігель // Наукові праці українського

державного університету харчових технологій. – 2001. – № 10. – Ч.1. – С. 136-137.

162. Король, Ц.О. Селекція перспективних мікрококів та стафілококів для ферментації м'ясних продуктів / Ц.О. Король, С.Г. Даниленко, Н.Ф. Кігель. // Вісник аграрної науки. – 2004. – №4. – С.56-59.

163. Король, Ц.О. Застосування методу “лунок” для встановлення взаємовідносин між складниками заквашувальних композицій / Ц.О. Король, С.Г. Даниленко // Вісник аграрної науки. – 2008. – № 8. – С. 58-61.

164. Король, Ц.О. Бактеріальний препарат “Лакмік” - гарант якості та безпеки ферментованих м'ясних продуктів / Ц.О. Король, С.Г. Даниленко, Н.Ф. Кігель. // Збірник наукових праць Луганського національного аграрного університету. Серія: Технічні науки. - Луганськ: ЛНАУ. - 2008. - № 87. – С. 101-112.

165. Король, Ц.О. Застосування бактеріальних препаратів для суцільном'язових сиров'ялених продуктів із м'яса птиці / Ц.О. Король, С.Г. Даниленко, Н.Ф. Кігель. // Матеріали Всеукраїнської конференції з питань безпеки харчування (27-29 березня 2010 р., Київ). Тези доповідей – К. – 2010. – С. 175-176.

166. Патент на корисну модель № 63704 Заявка № а 2010 04109 МПК6 С 12 N 1/20 А 22 С 11/00 А23L1/31, А23В4/0 С12R1:25 Штам бактерії *Lactobacillus plantarum*, що використовується у виробництві бактеріальних препаратів та ферментованих м'ясних продуктів / Король Ц.О., Даниленко С.Г., Кігель Н.Ф. – від 25.10.11.

167. Король, Ц.О. Оцінювання життєздатності культур молочнокислих бактерій при їх заморожуванні та сушінні / Ц.О. Король, С.Г. Даниленко, В.М. Закревська // Продовольчі ресурси: проблеми і перспективи: зб. наук. праць за матеріалами I Міжнар. Наук.-практ. конф., Секція 1. «Інноваційні біотехнології та обладнання в харчовій промисловості» 30 лист. 2016р. / Інститут продовольчих ресурсів НААН України. – 2016. – С. 22-25

168. Кощяев, А. Г. Улучшение потребительской ценности продукции

птицеводства / А. Г. Коцаев // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2007. – №2. – С. 34-38.

169. Коцаев, А. Г. Экологизация продукции птицеводства путем использования пробиотиков как альтернативы антибиотикам / А. Г. Коцаев // Юг России: экология, развитие. – 2007. – № 3. – С. 93-97.

170. Кравців, Р.Й. Ветеринарна гематологія / Р.Й. Кравців, В.П. Романишин, Ю.Р. Кравців. – Л., 2001. – 320 с.

171. Кравців, Р.Й. Окремі морфо-хімічні показники крові за дії метіонатів заліза, міді і вітаміну Є на фоні надмірного надходження свинцю в організм // Р.Й. Кравців., О.О. Дашковський / Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького. – Львів, 2000. – Т.2. - № 3-4. - С. 44-50

172. Красникова, Л.В. Метаболизм молочнокислых бактерий / Л.В. Красникова, И.Е. Кострова – М.: ЦНИТЭИмясомолпром СССР, 1980. – С. 44-52.

173. Краснопольский, Ю. М. Пробиотики в составе биологических диетических добавок / Ю. М. Краснопольский // БАД-эксперт. – 2009. – № 1. – С. 18 – 22.

174. Крыжская, Т.А. Формирование вкуса и аромата сыровяленых изделий под влиянием бактериальных препаратов / Т.А. Крыжская, Ц.А. Король, С.Г. Даниленко, Я.Ф. Жукова, Н.Ф. Усатенко. // Птица и птицепереработка. – 2013. –№ 6 – С. 56-59.

175. Крыжская, Т.А. Поваренная соль, как барьер безопасности для цельномышечных продуктов из мяса птицы / Т.А. Крыжская, С.Г. Даниленко, Н.Ф. Усатенко. // Молодеж и инновации -2013: Материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых. В 4- ч./ Гл. Ред.. А.П. Курденко. – Горки: Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, 2013. – Ч3. с. -38-41

176. Кудряшов, Л.С. Использование нитрита и нитрата натрия при производстве колбасных изделий / Л.С. Кудряшов, А.Б. Лисицын, Р.Х.

Баймишев, Г.П. Горошко // Мясная индустрия. – 2004. - №10. – С. 22-26.

177. Кузнецов, В.А. Технология переработки мяса и других продуктов убоя животных / В.А. Кузнецов, Я.П. Шлипаков. - М.: Колос, 1974. – 180 с.

178. Куприй, С.П. Использование пробиотика из молочнокислых бактерий в кормлении поросят / С.П. Куприй, В.Ф. Капенюк // Бюллетень ВНИИФБиП. – Боровск, 1990. – Вип. 6 (93). – С. 22-26.

179. Курманаева, В.В. Коррекция микробиоценоза кишечника цыплят-бройлеров при включении в их рационы пробиотиков / В. В. Курманаева, Бушов А.В. // Вестник Ульяновской госу дарственной сельско хозяйственной академии. 2012. –№3 (19). – С.93-99

180. Кучерявий, В.П. Кислотність вмістимого кишківника свиней при згодовуванні бактеріальних препаратів [Електронний ресурс] / В.П. Кучерявий // Вісник Житомирського національного агроєкологічного університету. – Електронний журнал. – 2014. – № 1(1). – С. 162-167. – Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vzhnau_2014_1\(1\)_29](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vzhnau_2014_1(1)_29)

181. Кучерявий, В.П. Каріометричні показники товстого відділу кишечника молодняку свиней при згодовуванні лактину к-10 [Електронний ресурс] / В.П. Кучерявий // Наукові доповіді НАУ. – Електронний журнал. – 2006 – №4 (5). – Режим доступу: <http://www.nbuv.gov.ua/e-Journals/nd/2006-4/06kvpolk.pdf>

182. Лабинская, А. С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований / Под ред. Лабинская А. С., Блинкова Л. П., Ещина А. С. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.

183. Лабза, В. Ю. Використання пробіотиків мультибактерин та Імунобактерин-Л в якості засобів профілактики захворювань поросят [Електронний ресурс] / В. Ю. Лабза // Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України. – 2016. – Режим доступу до ресурсу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nd_2016_3_13.

184. Лаврик, Г.С. Характеристика адгезивних властивостей лактобацил –клінічних ізоляторів та складників біопрепаратів / Г.С. Лаврик // *Annals of Mechnikov Institute.* – № 2. – 2015. – С. 200-203
185. Лагода, И.В. Сублимационная сушка производственно ценных штаммов молочнокислых бактерий / И.В. Лагода // *Молочная промышленность.* 2003. – №3. – С. 4-7.
186. Лапинская, А.П. Формирование микробиоценоза сельскохозяйственных животных и птицы, проблемы и перспективы / А.П. Лапинская // *Зернові продукти і комбікорми.* – 2013. – № 2 (50). – С. 29-34.
187. Лаптев, И.А. Высококачественные мясные изделия без остаточного содержания нитрита натрия / И.А. Лаптев, Н.Г. Машенцева, В.В. Хорольский // *Мясная индустрия.* – 2007. – № 12. – С. 25-28.
188. Лаптев, И.А. Высококачественные мясные изделия без остаточного содержания нитрита натрия / И.А. Лаптев, Машенцева, В.В. Хорольский Семенышева А.И. // *Мясная индустрия.* – 2007. – №12 – С.56-58.
189. Ленивкина, И.А. Влияние штамма бифидобактериум *адолесцентис* МС-42 и витамина К на сохранность и интенсивность роста поросят / И.А. Ленивкина // *Матер. науч.-практ. конфер. ученых НГАУ и Гумбольдского университета (г. Берлин).* – Новосибирск, 1995. – С. 85 – 86
190. Левантин, Д.Л. Значение откорма скота в увеличении производства говядины / Д.Л. Левантин, Х.А. Амерханов // *Молочное и мясное скотоводство.* – 1999. – №7. – С. 2-5.
191. Литвин, В.П. Перспективи використання пробіотичних препаратів при вирощуванні поросят / В.П. Литвин, В.М. Литвиненко, В.В. Поліщук, Н.Г. Сорокіна // *Науковий вісник НУБІП України. Серія: ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва.* – 2013. – № 188.
192. Литвин, В.П. Нові пробіотики, їх захисна роль в організмі і обґрунтування до застосування / В.П. Литвин, В.В. Поліщук, І.А. Кучеренко // *Вісник аграрної науки.* – 1998. – Спец. вип. вересень. – С. 51-56.

193. Литвин, В.П. Вплив пробіотиків на імунологічну реактивність організму телят і птиці / В.П. Литвин, В.В. Поліщук, В.М. Литвиненко, І.А.Кучеренко // Тези доп. Наук. конф. проф.-викл. складу, наук. співроб. та асп. присвячена 85-річчю ф-ту вет. медицини. – К., 2000. – С. 17.
194. Литвина, Л.А. Опыт использования пробиотика при выращивании телят /Л.А. Литвина, В.М. Коростель // Актуальные проблемы животноводства: наука, производство и образование: матер. II Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 70-летию зооинженерного факультета Новосибирского ГАУ / 22 – 24 марта 2006 г. – Новосибирск, 2006. – С. 46 – 47.
195. Левицкий, А.П. Пребиотики и проблема дисбактериоза / А.П. Левицкий, Ю.Л. Волянский, К.В. Скидан. – Харьков: ЭДЭНА. – 2008. – 100 с.
196. Леонова, Б. М'ясна сировина під дією молочнокислих бактерій / Б. Леонова // Продовольча індустрія АПК . – 2014. - №5. - С.7-10
197. Ляйстнер, Л. Барьерные технологии: комбинированные методы обработки, обеспечивающие стабильность, безопасность и качество продуктов питания / Л. Ляйстнер, Г. Гоулд. –М.: ВНИИМП. – 2006. – 236 с.
198. Лянная, А.М. Биологические и экологические особенности микробов рода *Bifidobacterium* / А.М. Лянная, М.М. Интизаров, Е.Е. Донских // Бифидобактерии и их использование в клинике, медицинской промышленности и сельском хозяйстве. – М. – 1986. – С. 32-38.
199. Макуха, М.О. Селекція біологічно активних штамів біфідобактерій / М.О. Макуха, О.В. Науменко // Біотехнологія: звершення та надії. Збірник тез V Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених (12-13 травня 2016 року, м.Київ). – КОМПРИНТ. – С. 46-48.
200. Малик, Н.И. Ветеринарные пробиотические препараты // Ветеринария. – 2001 . – № 1 . – С.46-51.

201. Малик, Н.И. Пробиотики: теоретические и практические аспекты / Н.И. Малик, А.Н. Панин // Ветеринария с.-х. животных. – 2006. – №6. – С.48-50.
202. Малик, Е.В. Пробиотики в профилактике желудочно-кишечных болезней свиней / Е.В. Малик // Главный зоотехник. – 2007. – №11. – С 48-51.
203. Малина, В.В. Вплив пробіотику Протекто-актив на продуктивні якості молодняку свиней при вирощуванні їх в умовах промислових технологій / В.В. Малина, Л.В. Бондаренко, В.А. Грицко // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. – 2013. – Т.15 № 1 (55). – С. 118-122.
204. Мангура, Л.П. Фізико-хімічна оцінка якості свинини / Л.П. Мангура // Свиноярство — 2013. —№ 62.. – С. 184-185.
205. Марушкина, В.И. Влияние среды культивирования на развитие денитрифицирующих микроорганизмов / В.И. Марушкина, М.М. Михайлова // Труды ВНИИМП. – 1973. – вып. 27. – С. 162-166.
206. Машенцева, Н.Г. Скрининг с целью выявления аминонегативных стартовых бактериальных культур для их использования в мясной промышленности / Н.Г. Машенцева, В.В. Хорольский, Ю.А. Рыбаков и др. // Биотехнология. – 2006. – № 5. – С. 70-76.
207. Машенцева, Н.Г. Функциональные стартовые культуры в мясной промышленности / Н.Г. Машенцева, В.В. Хорольский // М.: ДеЛи принт, 2008. – 336 с.
208. Машенцева, Н.Г. Стартовые культуры в мясных технологiях / Н.Г. Машенцева // Мясные технологи. – 2015. – № 3. – С. 24-29.
209. Машенцева, Н.Г. Создание функциональных бактериальных препаратов для мясной промышленности / Н. Г Машенцева // Мясная индустрия. – 2008.–№1.– С. 26–29.
210. Мельниченко, Ю.О. Біотехнологія одержання пробіотичної добавки та її використання за вирощування курчат-бройлерів: автореф. дис. на здоб. наук. ступ. канд. сільськогосп. наук / Мельниченко Ю.О.;

Білоцерківський національний аграрний університет. – Біла Церква, 2016. – 23с.

211. Мешков, В.М. Из опыта применения пробиотика термоспорина пороссятам-сосунам/ В.М. Мешков, Л.Г. Кислинская, М.А. Дьяконова // Известия Оренбургского Государственного Аграрного Университета. – 2012. – №34-1, Т.2. – С. 85-86.

212. Пат. РФ 2063759 А61К35/36 Способ получения свободных аминокислот из биологических тканей / Мельниченко В.П., Михайлеченко Б.В.; заявитель и патентовладелец УГМУ им. акад. А.А. Богомольца – заявл. 22.04.1992; опубл. 20.07.1996.

213. Меренкова, С.П. Перспективы использования пробиотических микроорганизмов в технологии цельномышечных изделий / С.П. Меренкова, И.Ю. Потороко, И.В. Захаров, В.И. Байбаков // Техника и технология пищевых производств. – 2015. – № 1. – С. 47-53.

214. Методические рекомендации по оценке мясной продуктивности, качества мяса и подкожного жира свиней. – М.: ВАСХНИЛ, 1987. – 64 с.

215. Методические рекомендации по выделению и идентификации бактерий рода *Staphylococcus* / М.: Главное эпидемиологическое управление Министерство здравоохранения РСФСР. – 1990. – 21 с.

216. Мишурнова, Н.В. Препарат СТФ-1/56 эффективное средство профилактики сальмонеллеза птиц / Н.В. Мишурнова, Ф.С. Киржаев // Ветеринария. – 1993. – № 10. – С. 26-30.

217. Москаленко, О.І. Пробиотики для профілактики та лікування шлунково-кишкових хвороб молодняка / О.І. Москаленко // Ветеринарна медицина України. –1997. –№ 5. –С. 15-17.

218. Никитин, В.Я. Резистентность микроорганизмов к лекарственным средствам / В.Я. Никитин, Н.Х. Кучерук, П.И. Кузьменко, В.Е. Винников // Вестник ветеринарии. – 1999. – № 12 (1/99). – С. 31-38.

219. Николичева, Т.А. Изучение острой и хронической токсичности пробиотических штаммов молочнокислых бактерий на лабораторных

животных / Т.А. Николичева, Б.В. Тараканов, Е.С. Петраков, Л.Л. Полякова // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2011. – №3. – С. 97-105.

220. Николичева, Т.А. Влияние кормосмесей с БВК и гидролизными дрожжами на микрофлору пищеварительного тракта свиней / Т.А. Николичева // Труды ВНИИФБиП. – Боровск – 1980. – Т. XXIII. – С. 82-90.

221. Никулин, В.Н. Влияние пробиотического препарата микроцикола на некоторые показатели минерального обмена кур-несушек / В.Н. Никулин, В.В. Герасименко, О.В. Герасимова // Вестник ОГУ. – 2006. – №12, (62-2) – С. 172-174

222. Недорізанюк, Л.П. Застосування бактеріальних препаратів у технології ферментованих суцільном'язевих продуктів зі свинини / Л.П. Недорізанюк, В.Ю. Лизова, С.Г. Даниленко. // «Сучасні технології та обладнання харчових виробництв»: Матеріали міжнародної науково-технічної конференції (29-30 вересня 2011р., Тернопіль). – Т.: ТНТУ. – С. 87-88.

223. Патент UA № 113345 МПК (2016.01) A23L 13/40 (2016.01); A23L 13/70 (2016.01) A22C 11/00 Спосіб виробництва сирокочених суцільном'язових продуктів зі свинини Недорізанюк Л.П., Лизова В.Ю., Даниленко С.Г. а 2015 08055 від 13.08.2015, Бюл. № 5; опубл. 10.01.2017, Бюл. №1.

224. Неміровська, Л.М.. Особливості біології молочнокислих бактерій травного тракту телят [Електронний ресурс]: автореф. дис. на здоб. наук. ступ. канд. біолог. наук (10.02.97) / Неміровська Людмила Миколаївна; Інст. мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного. – Електронні дані. – Київ, 1997. – Режим доступу: <http://earthpapers.net/osobennosti-biologii-molochnokislyh-bakteriy-pischevogo-trakta-telyat#ixzz5N6Z6XoPB>, вільний.

225. Нестеренко, А.А. Технология ферментированных колбас с использованием электромагнитного воздействия на мясное сырьё и стартовые культуры / А.А. Нестеренко // Новые технологии. – 2013. – № 1. – С. 36-39.

226. Нефедова, Н.В. Изучение функциональных свойств колбас со стартовыми культурами / Н.В. Нефедова, М.П. Артамонова, А.Н. Помиков // Мясная индустрия. – 2003. – № 11. – С. 48-49.
227. Новик, Г.И. Биологическая активность микроорганизмов-пробиотиков / Г.И. Новик, Г.И. Мелентьев, А.А. Самарцев // Микробиология. – 2006. – № 2. – С 187-194.
228. Новик, Г.И. Выделение и характеристика белково-полисахаридного комплекса, секретируемого *Bifidobacterium adolescentis* / Г.И. Новик, Н.И. Астапович, А.А. Самарцев, Н.Е. Рябая // Микробиология. – 1997. – Т. 66, № 5. – С. 621-627.
229. Ноздрин, Г.А. Пути повышения естественной резистентности новорожденных телят / Г.А. Ноздрин, А.С. Донченко // Актуальные вопросы ветеринарии: Тез. докл. - Новосибирск, 1997. - С. 4-5.
230. Ноздрин, Г.А. Научные основы применения пробиотиков в птицеводстве / Г.А. Ноздрин, А.Б. Иванова, А.И. Шевченко, А.Г. Ноздрин //Новосиб. гос. аграр. ун-т. – Новосибирск, 2005. – 188 с.
231. Нугуманов, Г.О. Влияние пробиотика «витафорт» и «ветом» на состав кишечной микрофлоры поросят-отъемышей / Г.О. Нугуманов, Ф.С. Хазиахметов, А.В. Андреева // Fundamental research. – 2013. – № 6. – С. 606-610.
232. Нугуманов, Г.О. Пробиотик «Витафорт» в рационах поросят-отъемышей / Г.О. Нугуманов, Ф.С. Хазиахметов // Известия Самарской ГСХА. – 2012. – № 1. – С. 162-164.
233. Нугуманов, Г.О. Рост и развитие поросят-отъемышей при использовании в рационах пробиотика «Витафорт» / Г.О. Нугуманов, Ф.С. Хазиахметов // Вестник Башкирского ГАУ. – 2012. – № 4. – С. 42-44.
234. Овод А.С. Профилактика диарей новорожденных телят пробиотиками / А.С. Овод // Ветеринария. – 2007. – № 2. – С. 6-7.
235. Осипова, С.Н. Лабораторные исследования крови животных / Н.А. Осипова, С.Н. Магер, Ю.Г. Попов, - Новосибирск, 2003. – 48 с.

236. 371 Остапчук, П.П. Породи свиней та їх використання / П.П. Остапчук. – К.: Урожай, 1980. – 192 с.

237. Панасюк, І.В. Дослідження використання ферментного препарату «протосубтилін» у виробництві балику «Дарницький» / І.В. Панасюк, Н.Ф. Кігель, С.Г. Даниленко. // «Наукові здобутки молоді - вирішенню проблем харчування людства у ХХІ столітті»: Матеріали 77-а наукова конференція молодих вчених, аспірантів і студентів (11-12 квітня 2011р., м. Київ). – К.: НУХТ, ч.1. – С.262-263

238. Панасюк, І.В. Підбір штамів різних таксономічних груп для ферментування м'ясної сировини / І.В. Панасюк, С.О. Гарда, Л.П. Недоризанюк, С.Г. Даниленко // 78 міжнародна наукова конференція молодих учених, аспірантів та студентів «Наукові здобутки молоді – вирішення проблем харчування людства у ХХІ столітті», 2-3 квітня 2012 Київ НУХТ. – с. 427-428.

239. Панасюк, І.В. Вплив складу захисного середовища на виживання молочнокислих бактерій та стафілококів за ліофілізації та зберігання / І.В. Панасюк, С.О. Гарда, Л.П. Недоризанюк, Даниленко С.Г. // Новітні тенденції у харчових технологіях та якість і безпечність продуктів: Збірник статей IV Всеукраїнської науково-практичної конференції (Львів, 05-06 квітня 2012р.). – Львів, 2012. – С. 62-65

240. Панасюк, І.В. Влияние продолжительности посола на микрофлору мясного продукта / И.В. Панасюк, С.О. Гарда, Л.П. Недоризанюк, С.Г. Даниленко // Сборник материалов V-й Всероссийской студенческой научной конференции «Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии» Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии (Ульяновск, 25 – 26 апреля 2012 года)

241. Пауликас, В.Ю. Паразитоценоз желудочно-кишечного тракта свиней / В.Ю. Пауликас. – М.: Агропромиздат, 1990. – 81 с.

242. Позняковский, В.М. Биотехнология в колбасном производстве: Обзор информации / Позняковский В.М., Чеботарев Л.Н., Егорченкова Л.А. – М.: АгроНИИТЭИ мясо-молочная пром-сть, 1988. – 32 с.
243. Перт С.Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток / С.Дж. Перт – М.: Мир, 1978. – 331 с.
244. Покровський, А.А. О биологической и пищевой ценности продуктов питания / А.А. Покровський // Вопросы питания. – 1975. - №3. – С. 13-18.
245. Поліщук, В.В. Вплив бактерину-SL на напруженість специфічного імунітету у телят / В.В. Поліщук, С.Р. Резник, В.П. Литвин, В.О. В'юницька // Журнал Тваринництво України, – 1995. – № 7 – С. 17.
246. Поливода, А.М. Оцінка якості свинини за фізико-хімічними показниками / А.М Поливода // Свиноводство: Сб. – Вип. 24. – К.: Урожай, 1976. – С. 57-62.
247. Потемська, О.І. β - галактозидазна активність як критерій відбору штамів до складу бактеріальних препаратів / О.І. Потемська, Н.Ф. Кігель, С.Г. Даниленко, К.В. Копилова // Харчова наука і технологія. – 2017. – V. 11 № 3 – С. 35-41 DOI: <http://dx.doi.org/10.15673/fst.v11i3.604>
248. Похилько, Ю. М. Пробиотичні властивості бактерій роду *Lactobacillus*, виділених зі шлунково-кишкового тракту кроликів / Ю.М. Похилько, Н.О. Кравченко // Біологічні Студії / *Studia Biologica*. – 2018. – Т. 12, №1. – С. 35-46.
249. Приказ Минздрава СССР № 535 от 22.04.1985. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений.
250. Прищеп, Т. П. Основы фармацевтической биотехнологии: Учебное пособие / Т. П. Прищеп, В. С. Чучалин, К. Л. Зайков, Л. К. Михалева. – Ростов н/Д.: Феникс; Издательство НТЛ, 2006. – 256 с.

251. Прянишников, В.В. Современные технологии сырокопченых колбас с применением стартовых культур / В.В. Прянишников, А.В. Ильтяков // Мясная индустрия. – 2011. – № 10. – Р. 30-32.
252. Прянишников, В.В. Современные технологии производства ферментированных мясных продуктов / В.В. Прянишников // Рациональное питание, пищевые добавки и биостимуляторы. – 2016. – № 5. – С. 30-37.
253. Равлюк, А.В. Аналіз виробництва про біотичних препаратів в Україні / А.В. Равлюк, Н.В. Дехтяренко // Біотехнологія: звершення та надії. Збірник тез V Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених (12-13 травня 2016 року, м.Київ). – КОМПРИНТ. – С. 58-59.
254. Раскошная, Т.А. Разработка питательной среды и режимов культивирования *Lactobacillus reuteri* для получения бактериального концентрата / Т.А. Раскошная, В.Ф. Семенихина, И.В. Рожкова, А.В. Бегунова // Техника и технология пищевых производств. – 2016. – № 3. – Т. 42. – С. 56-62.
255. Рачев, Р. Метод за определяне на летливите мастни киселики във ферментирали млечни продукти и сирена посредством газовой хроматографии / Р. Рачев // Хранительна промишленост. – 1975. – № 8-9. – С. 24-27.
256. Рогов, И.А. Тенденция применения биотехнологии в рациональном использовании животноводческого сырья: Обзорная информация / И.А. Рогов, В.В. Хорольский, Н.Н. Липатов и др. // – М.: АгроНИИТЭИММП. – 1994. – 32 с.
257. Рогов И.А. Общая технология мяса и мясопродуктов / И.А. Рогов, А.Г. Забашта, Г.П. Казюлин. – М.: Колос, 2000. – 367с.
258. Рогов, И.А. Технология мяса и мясных продуктов. учебник для вузов. Кн. 1: Общая технология мяса / И. А. Рогов, А. Г. Забашта, Г. П. Казюлин. – М.: КолосС, 2009. – 565 с.

259. Рогов, И.А. Разработка научных основ комплекса физических, химических, микробиологических и биологических методов повышения качества и экологической чистоты мясного сырья / И.А. Рогов, Е.И. Титов, Н.Г. Кроха, В.А. Алексахина, Л.Ф. Митасева / Тез. докл. межгосуд. семинара. – Кемерово, 1993. – С. 5-6.
260. Рудишин, О.Ю. Влияние витамина К3 и биовестина на интенсивность роста и иммунитет поросят / О.Ю. Рудишин, Ю.Н. Симошина // Вестник Российской Академии сельскохозяйственных наук. – 2003. - № 5. – С. 53 – 5
261. Рыбачук, О. Функции и использование стартовых культур в производстве колбасных изделий / О. Рыбачук // Мясной бизнес. – 2005. – №3 (32), №4, (33), №6 (35). – С. 26-27, 52-53, 50-51. 2005, N 3 (32), N 4 (33), N 6 (35), P. 26-27, 52-53, 50-51.
262. Садовов, Н.А. Резистентность цыплят-бройлеров при включении в рацион витамина А / Н.А. Садовов // Зоотехния. - 2002. - № 7. - С. 15-17.
263. Сазыкин, Ю. О. Биотехнология: учебное пособие для студентов высш. учеб. заведений / Ю. О. Сазыкин, С. Н. Орехов, И. И. Чакалева – М. : Издательский центр «Академия», 2008. – 348 с.
264. Сборник технологических инструкций по производству полукопченых, варено-копченых, сырокопченых колбас. – ГосАгропром СССР: ВНИКИМП. – М., 1987. – 90 с.
265. Свеженцов, А.І. Нормована годівля свиней / А.І. Свеженцов, Р.Й. Кравців, Я.І. Півторак // Посібник. – Львів. – 2005. – 385 с.
266. Свириденко, Т.А. Вплив бактеріальних препаратів на перебіг ферментації м'яса птиці / Т.А. Свириденко, Ц.О. Король, С.Г. Даниленко, Н.Ф. Кігель, Н.Ф. Усатенко. // Вісник аграрної науки. – 2010. - №6. – С. 58-61.
267. Северин, С.Е. Практикум по биохимии: Учебное пособие / Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 509 с.
268. Селиванова, И.Р. Новый пробиотик «Бифилак» для лечения и

профилактики расстройств пищеварения у поросят / И.Р. Селиванова // Проблемы прикладной науки. Ветеринарная патология. – 2007. - №2. – С. 186-189.

269. Семина, Н.А., МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности к антибактериальным препаратам. Методические указания / Н.А. Семина, С.В. Сидоренко, С.П. Резван и др. // Клин. микроб. антимикроб. химиотер. – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 306-356.

270. Семченко, А. В. Совершенствование способа получения пробиотических препаратов / А. В. Семченко, А.В. Казьянин, Е. В. Орлова, В. А. Несчисляев // Фундаментальные исследования. — 2007. — № 12. — С. 350 – 351.

271. Сидоров, М.А. Нормальная микрофлора животных и ее коррекция пробиотиками / М.А. Сидоров, В.В. Субботин, Н.В. Данилевская // Ветеринария. – 2000. – № II. – С. 17-22.

272. Сирохман, І. В. Товарознавство харчових продуктів функціонального призначення: підручник / І. В. Сирохман, В. М. Завгородня. – К.:Центр учбової літератури. – 2009. – 544 с.

273. Скворцова, Л. Эффективность использования пребиотика Ветелакт при выращивании бройлеров /Л. Скворцова // Комбикорма. – 2005. – №6. – С.64

274. Скибіцький, В.Г. Виділення лактобактерій від телят та їх ідентифікація / В.Г. Скибіцький, Г.В. Козловська, С.Г. Даниленко, В.Г.Спиридонов, Д.Л. Мартиненко, А.П. Герілович // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України Серія «Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва»- 2011. - т.167, ч.1. - С. 102-108.

275. Скибіцький, В.Г. Виділення лактобактерій від телят та їх ідентифікація / В.Г. Скибіцький, Г.В. Козловська, С.Г. Даниленко, В.Г. Спиридонов, Д.Л. Мартиненко, А.П. Герілович. // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України

Серія «Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва» - 2011. - т.167, ч.1. - С. 102-108

276. Скориков, А.В. Влияние препарата Баксинвет на становление микробиоценоза кишечника и заболеваемость новорожденных телят острыми кишечными болезнями [Электронный ресурс] / А.В. Скориков, Н.Ю. Басова, В.В. Пачина, М.А. Староселов, Ю.Е Федоров // «Ветеринария Кубани. – 2014. - № 4. – Режим доступа: http://www.vetkuban.com/num4_201403.html

277. Скородумова, А.М. Практическое руководство по технической микробиологии молока и молочных продуктов /Скородумова А.М.– М.: Пищепромиздат, 1963. – 308 с.

278. Смирнов, В.В. «Диастаф» – экспресс-метод диагностики стафилококков. / В.В. Смирнов, Е.А. Киприанова, Н.Б. Проскурякова, О.Р. Гвоздяк, А.Д. Гарагуля // Информационное письмо Республиканского центра научной медицинской информации. Вып. 6 / В.В. Смирнов, Е.А. Киприанова, Н.Б. Проскурякова, О.Р. Гвоздяк, А.Д. Гарагуля. – 1995. – № 96

279. Смирнов, В.В. Мікробні біотехнології у сільському господарстві / В.В. Смирнов, В.С. Підгорський, Г.О. Іутинська [та ін.] // Вісник аграрної науки. – 2002. – № 4. – С. 5-10.

280. Смирнов, В. Микотоксины: фундаментальные и прикладные аспекты / В. Смирнов, А. Зайченко, И. Рубежнюк // Кормление с/х животных и комопроизводство. – 2006 – №11. – С.14-18.

281. Смирнов, В.В. Влияние комплексного пробиотика споролакта микробиоценоз кишечника теплокровных / В.В. Смирнов, С.Р. Резник, В.А. Вьюницкая, И.Б. Сорокулова, В.П. Литвин // Микробиол. журн. – 1995. – 57, № 4. – С. 42-49.

282. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / Під ред. О. В. Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — 528с.

283. Стояновський, В. Г. Мікроекологічна система кишечника бройлерів та способи її біонормалізації / В. Г. Стояновський, І.А. Коломієць,

В.А. Колотницький, О.І. Камрацька // Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С.З. Гжицького. – 2013. – Т. 15, № 3 (57). – С. 319-322

284. Стояновський, В.Г. Пробиотики та імунна система шлунково-кишкового тракту птиці / В. Г. Стояновський, І. А. Коломієць // Сучасне птахівництво. — К.: Світ. - 2011. — №4. — С. 21-25.

285. Субботин, В.В. Становление нормального микробиоценоза в постнатальном периоде у домашних животных/ В.В. Субботин // Материалы первого съезда фармакологов России.- Воронеж, 2007. — С.570-575.

286. Тараканов, Б.В. Лактатферментирующие бактерии пищеварительного тракта свиней / Б.В. Тараканов, Е.П. Пиминов // Бюллетень ВНИИФБиП. – Боровск. – 1990. – Вип. 3 (99). – С. 12-21

287. Тараканов, Б.В. Использование пробиотиков в животноводстве / Б.В. Тараканов. – Калуга, 1998. – С. 3 – 12.

288. Тараканов, Б.В. Методы исследования микрофлоры пищеварительного тракта сельскохозяйственных животных и птицы / Б.В. Тараканов. – Боровск: ВНИИФБиП с.-х. животных, 1998. – 145 с.

289. Тараканов, Б. Применение пробиотиков лактоамиловарина и максилена при выращивании поросят / Б. Тараканов, Л. Клабукова // Свиноводство. – 2000. – № 4. – С. 18-20.

290. Тараканов, Б.В. Механизмы действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта и организма животного / Б. В. Тараканов, Т. А. Николичева // Ветеринария. – 2000. – № 1. – С. 47.

291. Тараканов, Б.В. Новые биопрепараты для ветеринарии / Б. В. Тараканов, Т. А. Николичева // Ветеринария. – 2000. – № 7. – С. 45-50.

292. Тараканов, Б.В. Применение пробиотиков лактоамиловарина и максилена при выращивании поросят / Б.В. Тараканов, Т.А. Николичева // Ветеринария. - 2001. - № 3. – С. 46 – 48

293. Тимошко, М.А. Бактериоценоз пищеварительного тракта поросят / М.А. Тимошко, В.Г. Холмецкая, И.Ф. Бурсук; Отв. ред. М. А. Сидоров. – Кишинев: Штиинца, 1983. – 56 с.

294. Тимошко М.А. Микрофлора желудочно-кишечного тракта телят и поросят при стрессе / Стресс и адаптация сельскохозяйственных животных в условиях промышленных технологий. Кишинев: «Штиинца». 1992.- С. 147-175.
295. Топурия, Л.Ю. Использование пробиотиков при патологии желудочно-кишечного тракта у телят [Электронный ресурс] / Л.Ю. Топурия, Г.М. Топурия // Научный альманах. – Электронный журнал. – 2015. – № 8 (10). – С. 1167-1172. – Режим доступа: <http://ucom.ru/doc/na.2015.08.1167.pdf>
296. Трахтенберг, И.М. Проблемы нормы в токсикологии / И.М. Трахтенберг, Р.Е. Сова, В.О. Шефтель. – М. «Медицина», 1991. – 202 с.
297. Тремасов, М.Я. Опыт применения пробиотика при микотоксикозах / М.Я. Тремасов, Л.Е. Матросова, Е.Ю. Тарасова // Вестник ветеринарии. – 2009. – №50 (3). – С.38-41.
298. Труфанов, О.В. Эффективность применения препаратов «Моноспорин ПК» и «Бацелл» при микотоксикозах птицы / О.В. Труфанов, А.Н. Котик, В.А. Труфанова и др. // Кормление с.-х. животных и кормопроизводство. – 2009. – №6. – С.42-48.
299. Трухачев, В. Влияние «Лактовит –Н» на формирование кишечного микробиоценоза цыплят-бройлеров / В. Трухачев, Н. Злыднев, Е. Светкова // Главный зоотехник. – 2012. – № 8. – С. 22-24.
300. Фабіяньська, Л. В. Розробка технології препаратів лактобацил і їх використання для виготовлення сиркопчених ковбас: автореф. дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук / Фаябінська І.В.; Одеса, 2008. – 22 с.
301. Фатьянов, Е.В. Показатель активности воды в переработке мяса / Е.В. Фатьянов // Мясные Технологии - 2008. - № 12. - С. 11-14
302. Филатов, О. Ацидофилин – для поросят / О. Филатов // Свиноводство. – 1991. - № 4. – С. 33-34.
303. Франко, О.В. Бактеріальні препарати, як додатковий «бар'єр» у виробництві ферментованих м'ясних продуктів / О.В. Франко, С.Г.

Даниленко, Л.П. Недорізанюк. // Продовольчі ресурси – 2013. – № 1. – С. 58-64

304. Хамагаева, И.С. Использование пробиотических культур для производства колбасных изделий / И.С. Хамагаева, И.А. Ханхалаева, Л.И. Заиграева // Улан-Удэ: Издательство ВСГТУ. – 2006. – 204 с.

305. Хеншен, А. Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии. / Ред. А. Хеншен, К. Хупе, Ф. Лотшпайх, В.Вёльтер – М.: Мир, 1988. – 687с.

306. Ходакова, Н.Г. Биологические характеристики метициллинорезистентных стафилококков, циркулирующих в саратовском регионе: автореферат дис. ... кандидата биологических наук / Ходакова Н. Г. – Саратов, 2008. – 20 с.

307. Хорошевская, Л. Влияние Экофилтума на рост и развитие цыплят / Л. Хорошевская, А. Хорошевский, Т.Донцова, А. Анохин // Птицеводство. – 2010. – №8. – С. 33-34.

308. Определитель бактерий Берджи. [9-е издание, в 2-х томах] / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса / [пер. с англ., под ред. Г.А. Заварзина]. – М.: Мир, 1997. – 800 с.

309. Христич, Т.Н. Значение микрофлоры кишечника и новые возможности коррекции микробиоценоза / Т.Н. Христич // Новости медицины и фармации. — 2009. — № 16(290). — С. 10-11.

310. Христич, Т. Н. Микробиоценоз кишечника: механизмы развития, клиника дисбиоза и возможная коррекция его нарушений / Т. Н. Христич // Сучасна гастроентерологія. – 2010. – № 1 (51). – С. 86-91.

311. Черкащенко, И.И. Межпородное скрещивание крупного рогатого скота / И.И. Черкащенко, Н.П. Руденко. – М.: Рос- сельхозиздат, 1978. – С. 275-289.

312. Чернышов, Н.И. Антипитательные факторы кормов. / Н.И. Чернышов, И.Г. Панин, Н.И. Шумский, В.В. Гречишников // Справочная

книга — Воронеж, ОАО «Воронежская областная типография». — 2013. — 125с.

313. Чечеткин, А.В. Биохимия животных / А.В. Чечеткин [и др.] - М.: Высшая школа, 1982. – 511 с.

314. Шамилова, Т.А. Влияние пробиотика на микрофлору и гистоморфологию кишечника поросят при смешанном микотоксикозе / Т.А. Шамилова, Н.М. Шамилов // С. 355-359

315. Шевелева, С.А. Пробиотики. Пробиотики и пробиотические продукты. Современное состояние вопроса / С.А. Шевелева // Мікробіологічний журнал. – 2000. – Т. 62. – №3. – С. 30-35

316. Шевченко, С.А. Показатели роста и морфобиохимического статуса крови телят под влиянием пробиотика «Ветом 1.1.» / С.А. Шевченко, А.И. Шевченко, Н.И. Рядинская //Вестник Алтайского государственного аграрного университета. –2013. – № 1(99). – С. 82-84.

317. Шендеров, Б.А. Микрофлора человека и животных и ее функции. / Б.А. Шендеров // Медицинская микробная экология и функциональное питание. – Т.1. – М.: Издательство Грантъ, 1998. – 288 с.

318. Шендеров, Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Пробиотики и функциональное питание / Б.А. Шендеров // М.: изд-во «Грант». — 2001. — Т. 3. — 287 с.

319. Ширина, А.А. Фармакологическое обоснование применения пробиотика «Промомикс С» / А.А. Ширина, А.И. Петенко, Ю.А. Лысенко // Птицеводство. – 2013. – №9. – С. 35-39

320. Широченко, А.Е. Влияние аэрации на метаболизм молочнокислых бактерий и денитрифицирующих микроорганизмов / А.Е. Широченко, М.М.Михайлова, Н.В.Луданова // Труды ВНИИМП. – 1976., вып. 36. – С. 27-31.

321. Шиффнер, Э. Бактериальные культуры в мясной промышленности / Э.Шиффнер, В. Хагедорн, К. Опель; Пер. с нем. – М.: Пищевая промышленность. – 1980. – 96 с.

322. Щуков, С.А., Скобелев В.И. Использование бифидобактерий в животноводстве в сб. «Бифидобактерии и их использование в клинике медицинской промышленности и сельском хозяйстве» / С.А.Щуков, В.И. Скобелев. – М.:1986.
323. Юлевич, О.І. Ефективність використання пробіотиків у годівлі помісних поросят на дорощуванні / О.І. Юлевич, А.В. Лихач, Ю.Ф. Дехтяр // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького – 2017. – № 74, т 19 – С. 91-94.
324. Якубенко, Е.В. Бацел – средство повышения резистентности и продуктивности птицы / Е. В. Якубенко, А. Г. Кощев, А. И. Петенко, Г. П. Гудзь // Ветеринария. –2006. – № 3. – С. 14-16.
325. Якубенко, Е. В. Эффективность применения пробиотиков Бацелл и Моноспорин разных технологий получения в составе комбикормов для цыплят-бройлеров / Е. В. Якубенко, А. И. Петенко, А. Г. Кощев // Ветеринария Кубани. – 2009. – № 4. – С. 2-5.
326. Яценко, Л.І. Біологічна роль мікроорганізмів у підвищенні поживності кормів для свиней / Л.І. Яценко, Т.М. Рак // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2011. – № 2. – С. 80-83
327. Aarestrup, F. Antimicrobial Resistance in Bacteria Animal Origin / F. Aarestrup, H.K. Wegener // Washington DC: American Society for Microbiology, 2006. — P. 1-18.
328. Adiguzel, G.C. Phenotypic and Genotypic Characterization of lactic acid bacteria isolated from Turkish dry fermented sausage / G.C. Adiguzel, M. Atasever // Romanian Biotechnological Letters. – 2009. - Vol. 14, No. 1. - P. 4130-4138.
329. Albano, H. Antilisterial activity of lactic acid bacteria isolated from “Alheiras” (traditional Portuguese fermented sausages): In situ assays / H. Albano, M. Oliveira, R. Aroso, N. Cubero, T. Hogg // Meat Sci. – 2007. – № 4, V. 76. – P 796-800. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.01.019.
330. Amerah, A.M. Effect of pelleting temperature and probiotic supplementation on growth performance and immune function of broilers fed

maize/soy-based diets / A.M. Amerah, A. Quiles, P. Medel, J. Sánchez, M.J. Lehtinen, M.I. Gracia // *Animal Feed Science and Technology*. – 2013. – № 1-4, Vol. 180. – p. 55-63.

331. Andersen, L. Bioschutzkultur for Frischwurst / L. Andersen // *Fleischwirtschaft*. – 1997. – №. 5. – P. 424-449.

332. Apata ,D. F. Growth performance, nutrient digestibility and immune response of broiler chicks fed diets supplemented with a culture of *Lactobacillus bulgaricus* / D. F. Apata // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 2008. – Vol. 88. – P. 1253-1258.

333. Arena, M.P. The potential of lactic acid bacteria to colonize biotic and abiotic surfaces and the investigation of their interactions and mechanisms / M.P. Arena, V. Capozzi, G. Spano, D. Fiocco // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2017. – 101(7). – P. 2641-2657.

334. Ayhan, K. The effects of a starter culture on the formation of biogenic amines in Turkish soudjoucks / K. Ayhan., N. Kolsarici, G. Özkan // *Meat Science*. – 1999. – Vol. 53, № 3. – P. 183-188.

335. Aymerich,T. Microbial quality and direct PCR identification of lactic acid bacteria and nonpathogenic staphylococci from artisanal low-acid sausages / T. Aymerich, B. Martín, M.Garriga, M Hugas // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2003. – Vol. 69, № 8. – P. 4583-4594.

336. Baka, A. M. Effect of selected autochthonous starter cultures on processing and quality characteristics of Greek fermented sausages/ A.M. Baka, E.J. Papavergou, T. Pragalaki, J.G. Bloukas, P. Kotzekidou // *LWT – Food Science and Technology*. – 2011. – № 1, V. 44. – P. 54-61.

337. Balasubramanian, B. Effects of supplementing growing-finishing pig diets with *Bacillus* spp. probiotic on growth performance and meat-carcass grade quality traits / B. Balasubramanian, T. Li, In Ho Kim // *R. Bras. Zootec.* – 2016. – № 3, 45. – P. 93-100.

338. Barbosa, J. Selection of potential probiotic *Enterococcus faecium* isolated from Portuguese fermented food / J. Barbosa, S. Borges, P. // *Int.J. of Food*

Microbiology. – 2014. – 191. – P. 144–148.

339. Barriere, C. Characterization of catalase and superoxide dismutase in *Staphylococcus carnosus* 833 strain / C. Barriere, S. Leroy-Sertin, R. Talon // J. Appl. Microbiol. – 2001. – 91(3). – P. 514-519.

340. Bascomb, S. Use of enzyme tests in characterization and identification of aerobic and facultatively anaerobic gram-positive cocci / S. Bascomb, M. Manafi // Clin. Microbiol. Rev. – 1998. – Vol. 11, № 2. – P. 318-340.

341. Bayatkouhsar, J. Effects of supplementation of lactic acid bacteria on growth performance, blood metabolites and fecal coliform and lactobacilli of young dairy calves / J. Bayatkouhsar, A.M. Tahmasebi, A.A. Naserian, R.R. Mokarram, R. Valizadeh // Animal Feed Science and Technology. – 2013. – № 1-2, V.186. – P. 1-11.

342. Bedia, M. Evaluation of different starter cultures (Staphylococci plus Lactic Acid Bacteria) in semi-ripened Salami stuffed in swine gut / M. Bedia, L. Méndez, S. Bañón // Meat Science. – 2011. – 87(4). – P. 381-386.

343. Ben Salah, R. A new *Lactobacillus plantarum* strain, TN8, from the gastro intestinal tract of poultry induces high cytokine production / R. Ben Salah, I. Trabelsi, R. Ben Mansour, S. Lassoued, H.Chouayekh, S.Bejar // Anaerobe. – 2012. – № 4, V.18. – P. 436-444.

344. Benito, M.J. Differentiation of staphylococci from Iberian dry fermented sausage by protein fingerprinting / M.J. Benito, M.J. Serradilla, A. Martin et al. // Food Microbiology. – 2008. – Vol. 25, № 5. – P. 676-682.

345. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. V. 2 / Ed. P.H.A. Sneath. – Baltimore: Williams a. Wilkins Co, 1986. – 1434 p.

346. Blanco-Lizarazo C.M. Effect of Starter Culture and Low Concentrations of Sodium Nitrite on Fatty Acids, Color, and *Escherichia coli* Behavior during Salami Processing / C.M. Blanco-Lizarazo, I. Sotelo-Díaz, J. L. Arjona-Roman, A. Llorente-Bousquets, R. Miranda-Ruvalcaba // International Journal of Food Science. – V.2018, Article ID 5934305, 10 p. <https://doi.org/10.1155/2018/5934305>

347. Buckenhüskes, H.J. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as starter cultures for various food commodities / H.J. Buckenhüskes // FEMS Microbiology Reviews. – 1993. – № 1-3, V. 12. – P. 253-271.
348. Capita, R. Microbiological profiles, pH, and titratable acidity of chorizo and salchichón (two Spanish dry fermented sausages) manufactured with ostrich, deer, or pork meat / R. Capita, S. Llorente-Marigómez, M. Prieto, C. Alonso-Calleja // Journal of Food Protection. – 2006. – № 5, V. 69. – P. 1183-1189.
349. Carnio, M.C. The macrocyclic peptide antibiotic micrococcin P1 is secreted by the food-borne bacterium *Staphylococcus equorum* WS 2733 and inhibits *Listeria monocytogenes* on soft cheese / M.C. Carnio, A. Hölzel, M. Rudolf, T. Henle, G. Jung, S. Scherer // Appl. Environ. Microbiol. – 2000. – 66(6). – P. 2378-2384.
350. Casaburi, A. Technological activities of *Staphylococcus carnosus* and *Staphylococcus simulans* strains isolated from fermented sausages / A. Casaburi, G. Blaiotta, G. Mauriello // Meat Science. – 2005. – Vol. 71, № 4. – P. 643-650.
351. Casquete, R. Microbiological quality of salchichón and chorizo, traditional Iberian dry-fermented sausages from two different industries, inoculated with autochthonous starter cultures / R. Casquete, M.J. Benito, A. Martín, S. Ruiz-Moyano, E. Aranda, M.G. Córdoba // Food Control. – 2012. – № 1-2, V. 24. – P. 191-198.
352. Cha C.-N. Effect of *Lactobacillus plantarum* on noxious gas emission and carcass quality grade in finishing pigs / C.-N. Cha, E.-K. Park, C.-Y. Yoo, S. Kim, H.-J. Lee // Journal of Biomedical Research. – 2015. – № 2, V. 16. – P. 72-76.
353. Chiu, Y.H. Probiotic actions on diseases: implications for therapeutic treatments / Y.H. Chiu, S.L. Lin, J.J. Tsai, M.Y. Lin // Food Funct. – 2014. – 5(4). – P. 625-634.
354. Clark, Ed. 10 ideas that will change poultry nutrition and health / Ed. Clark // Feed International. – 2009. – Vol. 30. – № 6. – P. 10-11.
355. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards

for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement / CLSI. – 2014. – P. 68-75.

356. Cocolin, L. Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of the 16S rRNA gene V1 region to monitor dynamic changes in the bacterial population during fermentation of Italian sausages / L.Cocolin, M. Manzano., C. Cantoni, G. Comi // Appl. Environ. Microbiol. – 2001. – Vol. 67, № 11. – P. 5113-5121.

357. Comi, G. Characterisation of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy / G. Comi, R. Urso, L. Iacumin, K. Rantsiou, P. Cattaneo, C. Cantoni, L. Cocolin // Meat Sci. – 2005. – 69, № 3. – P. 381-392. doi: 10.1016/j.meatsci.2004.08.007.

358. Contreras-Govea, F. E. *Lactobacillus plantarum* effects on silage fermentation and *in vitro* microbial yield / F. E. Contreras-Govea, R.E. Muck, G. A. Broderick, P. J. Weimer // Animal Feed Science and Technology. – 2013. – № 1-4, V. 179. – P. 61-68.

359. Dalla Santa, O.R. Use of starter cultures isolated from native microbiota of artisanal sausage in the production of Italian sausage / O.R. Dalla Santa, R.E.F. de Macedo, H.S. Dalla Santa, C.M. Zanette, R. J. S. de Freitas, N.N. Terra // Food Sci. Technol. – 2014. – № 4, V. 34. – P. 780-786.

360. DE La Rosa Biochemical activities of Micrococcaceae and their effects on the aromatic profiles and odours of dry sausage model / DE La Rosa, M.-C. Montel, J. Reitz, R. Talon et al. // Food Microbiology. – 1996. – Vol. 13, № 6. – P. 489-499.

361. Delarras, C. Numerische Taxonomie von aus Fleischerzeugnissen isolierten Micrococcaceae-Stämmen / C. Delarras // Fleischwirtschaft. – 1980. – Vol. 60, № 12. – P. 2207-2208.

362. Demeyer, D. Control of bioflavour and safety in fermented sausages: first results of a European project / D. Demeyer, M. Raemaekers, A. Rizzo, A. Holck, A. De Smedt, B. Brink, B. Hagen, C. Montel, E. Zanardi, E. Murbrekk, F. Leroy, F. Vandendriessche, K. Lorentsen, K. Venema, L. Sunesen, L. Stahnke, L.

De Vuyst, R. Talon, R. Chizzolini, S. Eerola // Food Res. Int. – 2000. – 33(3-4). – P. 171-180.

363. Dias, F.S. Screening of Lactobacillus Isolated from Pork Sausages for Potential Probiotic Use and Evaluation of the Microbiological Safety of Fermented Products / F.S. Dias, W.F. Duarte, M.R. Rios, M. Santos, E.M. Ramos, R.F. Schwan // Journal of Food Protection. – 2013. – Vol. 76, No. 6. – P. 991-998.

364. Dodds, K.L. Nitrite tolerance and nitrite reduction in lactic acid bacteria associated with cured meat products / K.L. Dodds, D.L. Collins–Thompson. // Int. J. Food Microbiol. – 1984. – Vol. 1, № 3. – P. 163-170.

365. Donaldson, G.P. Gut biogeography of the bacterial microbiota / G.P. Donaldson, S.M. Lee, S.K. Mazmanian // Nature Reviews Microbiology. – 2016. – 14(1). – P. 20-32.

366. Drosinos, E. Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage / E. Drosinos, M. Mataragas, N. Xiraphi, G. Moschonas, F. Gaitis, Metaxopoulos J. // Meat Science. – 2005. – Vol. 69, № 2. – P. 307-317.

367. Dry starter cultures of Genesis Laboratories <http://www.nature-product.ru/proizvoditeli/genesis-laboratories>

368. Dorman, H.J.D. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. / H.J.D. Dorman, S.G. Deans // Journal of Applied Microbiology - 2000. - Vol. 88., - P. 308-316.

369. Duca, F. A. Gut microbiota, nutrient sensing and energy balance / F.A. Duca, T.K. Lam // Diabetes Obes. Metab. – 2014. – Vol. 16 – P. 68-76.

370. Dupuis, C. Proteinase activity of dairy propionibacterium / C. Dupuis, C. Corre, P. Boyaval // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1990. – 42(5). – P. 750-755.

371. Erickson, K.L. Probiotic immunomodulation in health and disease / K.L., Erickson, N.E. Hubbard // J. Nutr. — 2000. — V. 130. — 2S Suppl. — P. 403–409.

372. Essid, I. Characterization and technological properties of *Staphylococcus xylosus* strains isolated from Tunisian traditional salted meat / I. Essid, B.I. Hanen, B.H. Sami // *Meat Sci.* – 2007. – № 2, V. 77. – P. 204-212.

373. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes CETS No.: 123 // Official site of Council of Europe. — [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://conventions.coe.int/Treaty/Commun/QueVoulezVous.asp?NT=123&CM=8&DF=23/03/2013&CL=ENG>

374. Ferreira, V. Chemical and microbiological characterization of alheira: a typical Portuguese fermented sausage with particular reference to factors relating to food safety / V. Ferreira, J. Barbosa, S. Vendeiro, et al. // *Meat Science.* – 2006. – № 4, V. 73. – P. 570-575.

375. Fiorentini, Â. M. Viability of *Staphylococcus xylosus* isolated from artisanal sausages for application as starter cultures in meat products. / Â. M. Fiorentini, M. C. Sawitzki, T. M. Bertol, E. S. Sant'Anna // *Braz. J. Microbiol.* 2009. -vol.40, №.1. - C.

376. Francesca, N. Microbial characterisation of fermented meat products from the Sicilian swine breed “Suino Nero Dei Nebrodi” / N. Francesca, C. Sannino, G. Moschetti, L. Settann // *Annals of Microbiology.* – 2013. – V. 63, № 1. – P. 53-62.

377. Fleck1, Ž.C. Identification of lactic acid bacteria isolated from dry fermented sausages / Ž.C. Fleck1, V. Savić, L. Kozačinski1, B. Njari1, N.Zdolec, I. Filipović // *Veterinarski arhiv.* - 2012. - 82 (3). – C. 265-272.

378. Fontana C. Monitoring the bacterial population dynamics during fermentation of artisanal Argentinean sausages / C. Fontana, P. S. Cocconcelli, G. Vignolo // *International Journal of Food Microbiology.* – 2005. - vol. 103, № 2. - P. 131–142.

379. Freneuv, J. Recommended minimal standards for description of new staphylococcal species. Subcommittee on the taxonomy of staphylococci and streptococci of the International Committee on Systematic Bacteriology / J.

Frenev, W.E. Kloos, V. Hajek et al. // *Int. J. Syst. Bacteriol.* – 1999. – Vol. 49, № 2. – P. 489-502

380. Frizzo, L.S. Lactic acid bacteria to improve growth performance in young calves fed milk replacer and spray-dried whey powder / L.S. Frizzo, L.P. Soto, M.V. Zbrun, E. Bertozzi, G. Sequeira, R. Rodríguez Armesto, M.R. Rosmini // *Animal Feed Science and Technology.* – 2010. – № 3-4, V 157. – P. 159-167.

381. Fuller, R. Probiotics in man and animals. / R. Fuller // *J Appl. Bacteriol.* – 1989. – 66. – P. 365–378.127García Fontán M.C. Microbiological characteristics of Botillo, a Spanish traditional pork sausage / M.C. García Fontán, J.M. Lorenzo, S. Martínez, I. Franco, J. Carballo // *LWT - Food Science and Technology.* – 2007. – № 9, V. 40. – P. 1610-1622.

382. Garcia-Varona, M. Characterization of Micrococcaceae isolated from different varieties of chorizo / M. Garcia-Varona, E.M. Santos, I. Jaime, J. Rovira // *Int. J. Food Microbiol.* – 2000. – Vol. 54, № 3. – P. 189-195.

383. Giger-Reverdin, S. Effects of a probiotic yeast in lactating ruminants: interaction with dietary nitrogen level / S. Giger-Reverdin, N. Bezault, D. Sauvant, G. Bertin // *Animal Feed Science and Technology.* – 1996. – № 1-4, V. 63. – P. 149-162.

384. Gilliland, S.E. Effect of viable starter culture bacteria in yogurt on lactose utilization in humans / S.E. Gilliland, H.S. Kim // *J. Dairy Sci.* – 1984. – 67, N 1. – P. 1-10.

385. Giraffa, G. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from fermented meat products / G. Giraffa, M., A. Gafti Beltrame // *Ann. Microbial. ed enzimol.* – 1994. – Vol. 44, № 1. – P. 29-34.

386. Goldberg, J. Stability of lactic acid bacteria to freezing as related to their fatty acid composition / J. Goldberg, L. Eschar. // *Appl. And Environ. Microbiol.* – 1977. – Vol. 33, No 3. – P. 489-496.

387. Gomez, M.G. Debbittering activity of peptidases from selected lactobacilli strains in model cheeses / M.G. Gomez, P. Gaya, M. Nunez, M. Medina // *Milk Sci. Int.* – 1996. – Vol. 51, № 6. – P. 315-319.

388. Gonsalez-Fernandez, C. Influence of starter cultures and sugar concentrations on biogenic amine contents in chorizo dry sausages / C. Gonsalez-Fernandez, E.M. Santos, I. Jaime, J. Rovira // Food Microb. – 2003. – № 3, V. 20. – P. 275-284.

389. González-Fandos, M. E. The influence of manufacturing and drying conditions on the survival and toxinogenesis of *Staphylococcus aureus* in two Spanish dry sausages (chorizo and salchichón) / M. E. González-Fandos, M. Sierra, M. L. García-Lopez., M. C. García-Fernández, A. Otero // Meat Science. – 1999. – Vol. 52, №4. – P. 411-419.

390. Goodwin, S. Ecophysiological adaptations of anaerobic bacteria to low pH: analysis of anaerobic digestion in acidic bog sediments / S. Goodwin, J.G. Zeikus // Appl. Environ. Microbiol. – 1987. – 53(1). – P. 57-64.

391. Gøtterup, J. Colour formation in fermented sausages by meat-associated staphylococci with different nitrite- and nitrate-reductase activities / J. Gøtterup, K. Olsen, S. Knøchel, K. Tjener, L.H. Stahnke, J.K.S. Møller // Meat Science. – 2008. – 78(4). – P. 492-501.

392. Guerra, N.P. Production of four potentially probiotic lactic acid bacteria and their evaluation as feed additives for weaned piglets / N. P. Guerra, P. F. Bernárdez, J. Méndez, P. Cachaldora, L. P. Castro // Animal Feed Science and Technology. – 2007. – № 1-2, V. 134. – P. 89-107.

393. Guerrini, S. Selection of Autochthonous Bacterial Starters to Produce Typical Italian Dry-Fermented Sausages with Low Biogenic Amine Content / S. Guerrini, M. Venturi, S. Mangani, E. Mari, L. Granchi, M. Vincenzini. // Adv Biotech & Micro. – 2017. – № 4. V. 3. – P. 001-012.

394. Guerra-Ordaz, A. Effect of inclusion of lactulose and *Lactobacillus plantarum* on the intestinal environment and performance of piglets at weaning / A. Guerra-Ordaz, F. Molist, R.G. Hermes, A. Gómez de Segura, R.M. La Ragione, M.J. Woodward, M.A. Tchorzewska, J.W. Collins // Animal Feed Science and Technology. – 2013. – № 3-4, V. 185. – P. 160-168.

395. Hammes, W.P. New developments in meat starter culture / W.P.

Hammes, C. Hertel // Meat Science – 1998. – Vol. 49, № Suppl. 1. – P. 125-138.

396. Hassan, A.M. Effect of lactic acid producing bacteria on some potential pathogens in sausage / A.M. Hassan, L.M. Ebrahim // Global Journal of Agriculture and Food Safety Sciences. – 2014. – Vol.1. – P. 515-527.

397. Helgason, E. Multilocus Sequence Typing Scheme for Bacteria of the *Bacillus cereus* Group / Erlendur Helgason, Nicolas J. Tourasse, Roger Meisal, Dominique A. Caugant, and Anne-Brit Kolsto // Appl Environ Microbiol. – 2004 January. – 70 (1). – P. 191-201.

398. Hofmann ,H., Scharner E., Schlicht H. Verbssekung der umrotung durch starterkulturen / H. Hofmann, E. Scharner, H. Schlicht // Fleischwirtschaft – 1987. – Vol. 41, № 5. – P. 90-93.

399. Holley, R.A. Microbiological safety of traditional and starter-mediated processes for the manufacture of Italian dry sausage / R.A. Holley // Int. J. Food Microbiol. – 1988. – Vol. 7, № 1. – P. 49-62.

400. Hollister, A.G. The effects of probiotics on average daily gain, efficiency feed conversion and mortality / A.G. Hollister // Prog. - V.1. – 1990. - P. 39-43.

401. Hughes, M.C. Characterization of proteolysis during the ripening of semi-dry fermented sausages / M.C. Hughes, J.P. Kerry, E.K. Arendt, P.M. Kenneally, P.L. McSweeney, E.E. O'Neill // Meat Sci. – 2002. – 67(2). – P. 205-216.

402. Hugas, M. Bacterial starter cultures for meat fermentation / M. Hugas, J.M. Monfort // Food Chem. – 1997. – 59(4). – P. 547-554.

403. Hull M.E. Studies on milk proteins. Colorometric determination of the partial hydrolysis of the proteins in milk / M.E. Hull // J. Dairy Sci. – 1947. – Vol. 30. – P. 881-884.

404. Jin L.Z. Effects of adherent *Lactobacillus* cultures on growth, weight of organs and intestinal microflora and volatile fatty acids in broilers / L.Z. Jin, Y.W. Ho, N. Abdullah, M.A. Ali, S. Jalaludin // Animal Feed Science and Technology. – 1998. – № 3, V. 70. – P. 197-209.

405. Jyoti, B.D. Effect of preculturing conditions on growth of *Lactobacillus rhamnosus* on medium containing glucose and citrate / B.D. Jyoti, A.K. Suresh and K.V. Venkatesh // *Microbiological Research*. – 2004. – Vol. 159, №1. – P. 35-42.
406. Kabir S. The role of probiotics in the poultry industry / S. Kabir // *Int J Mol Sci*. – 2009. – Vol. 10. – P. 3531-3546.
407. Kenneally, P.M. Evaluation of the lipolytic activity of starter cultures for meat fermentation purposes / P.M. Kenneally, R.G. Leuschner, E.K. Arendt // *J. Appl. Microbiol.* – 1998. – 84(5). – P. 839-846.
408. Klaver, F.A.M., van der Meer R. The assumed assimilation of cholesterol by *Lactobacilli* and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile salt-deconjugating activity / F.A.M. Klaver, R van der Meer.// *Appl. Environ. Microbiol.* – 1993. – 59, No. 4. – P. 1120-1124.
409. Klingberg, T. D. Identification of potential probiotic starter cultures for Scandinavian-type fermented sausages / T.D. Klingberg, L. Axelsson, K. Naterstad, D. Elsser, B.B. Budde // *Int. J. Food Microbiol.* – 2005. – 105(3). – P. 419-431.
410. Knorr, D. Technology of probiotics and prebiotics / D. Knorr // *The Food, GItract Functionality and Human Health Cluster: abstracts 3rd Workshop Sites, Spain 15-17 March 2004.* – Finland: VTT Biotechnology, 2004.–N1.–P. 30 – 31
411. Kovacevic, D. Physicochemical, microbiological, and colour attributes of horse salami established during the ripening period /. Kovačevića D., Mastan jevića K., Pleadinb J., Frece J. // *Italian Journal of Food Science*. – 2016. - v. 28, № 1. - P. 96-106
412. Lacumin,, L. Ecology and dynamics of coagulase-negative cocci isolated from naturally fermented Italian sausages / L. Iacumin, G. Comi, C. Cantoni, L. Cocolin. // *J. Syst. Appl. Microbiol.* – 2006. – Vol. 29, № 6. – P. 480-486.
413. Laemmli, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U.K. Laemmli // *Nature*. – 1970. – Vol. 227. – P. 680-685.

414. Laranjo M. The Use of Starter Cultures in Traditional Meat Products /M. Laranjo, M. Elias, M.J.Fraqueza // Journal of Food Quality. – 2017. – V. 18 p.<https://doi.org/10.1155/2017/9546026>
415. Latorre-Moratalla, M. L. Biogenic amines in traditional fermented sausages produced in selected European countries / M.L. Latorre-Moratalla, T. Veciana-Nogués, S. Bover-Cid, M. Garriga, T. Aymerich, E. Zanardi, A. Ianieri, M.J. Fraqueza, L. Patarata, E.H. Drosinos, A. Lauková, R. Talon, M.C. Vidal-Carou // Food Chem. – 2008. – № 2, V. 107. – P. 912-921.
416. Leal-Sa'nchez, M. V.Optimization of Bacteriocin Production by Batch Fermentation of *Lactobacillus plantarum* LPCO10 / M. V. Leal-Sa'nchez., R. Jime'nez-Díaz, A. Maldonado-Barraga'n, A. Garrido-Ferna'ndez, Ruiz-Barba J. L. // Appl. Environ. Microbiol. – 2002. – Vol. 68, № 9. – P. 4465-4471.
417. Lensen, H. Role of *Lactobacillus reuteri* cell and mucus-binding protein A (CmbA) in adhesion to intestinal epithelial cells and mucus in vitro / H. Lensen, S. Roos, H. Jonsson et al. // Microbiology. – 2014. – 160(4). – P. 671-681.
418. Leroy, F. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation / F. Leroy, J. Verluyten, L. De Vuyst // Int. J. Food Microbiol. – 2006. – 106(3). – P. 270-285.
419. Lücke, F.-K. Starterkulturen für Rohwurst und Rohschinken Zusammensetzung und Wirkung / F.-K. Lücke, H. Hechelmann // Fleischwirtschaft. – 1986. – № 2, V. 66. – P. 154-157, 160-166, 191.
420. Maksimović, A.Ž. Lactic acid bacteria in traditional dry sausage production / A.Ž. Maksimović, N. Hulak, M. Vuko, V. Kovačević, I. Kos, M. Mrkonjić Fuka // MESO. – 2015. – Vol. XVII, №6. – P. 575-580.
421. Mansoub, N.H. Effect of Probiotic Bacteria Utilization on Serum Cholesterol and Triglycerides Contents and Performance of Broiler Chickens / Mansoub N.H. // Global Veterinaria. – 2010. – № 5 (3). – P. 184-186.
422. Maksimović Ž. Lactic acid bacteria in traditional dry sausage production / Ž. Maksimović A., N. Hulak, M. Vuko, V. Kovačević, I. Kos, M. Mrkonjić Fuka // MESO. – 2015. – XVII, № 6. – P. 575-580

423. Marco, A. The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage / A. Marco, J.L. Navarro, M. Flores // *Meat Science*. – 2006. – Vol. 73, № 4. – P. 660-673.
424. Martín, B. Molecular, technological and safety characterization of Gram-positive cocci from slightly fermented sausages / B. Martín, M. Garriga, M. Hugas, S. BoverCid, M.T. Veciana-Nogués, T. Aymerich // *Int. J. Food Microbiol.* – 2006. – № 2, V.107. – P. 148-158.
425. Martin, A. Characterization of Micrococcaceae isolated from Iberian dry-cured sausages / A. Martin, B. Colin, E. Aranda, M.J. Benito, M.G. Cordoba // *Meat Sci.* – 2006. – 75(4). – P. 698-708.
426. Mauriello, G. Proteolytic activity of *Staphylococcus xylosus* strains on pork miofibrillar and sarcoplasmatic proteins and use of selected strains in the production of «Naples type» salami / G. Mauriello, A. Casaburi, F. Villani // *J. Appl. Microbiol.* – 2004. – 92(3). – P. 482-490.
427. Mauriello, G., Casaburi A, Blaiotta G., Villani F. Isolated and technological properties of coagulase negative staphylococci from naturally fermented sausages of Southern Italy / G. Mauriello, A. Casaburi, G. Blaiotta, F. Villani // *Meat Science*. – 2004. – Vol. 67, № 1. – P. 149-158.
428. Milicevic B. Microbiota of the fermented sausages: influence to product quality and safety. / B. Milicevic, B. Danilovic, N. Zdolec, L. Kozachinski, V. Dobranic, D. Savic // *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. – 2014. - 20 (№ 5). – P. 1061-1078
429. Mikkelsen, L.L. Performance and microbial activity in the gastrointestinal tract of piglets fed fermented liquid feed at weaning / L.L. Mikkelsen, B.B. Jensen // *J. Anim. Feed Sci.* – 1998. – Vol. 7. – P. 211-215.
430. Missotten, J.A.M. Screening of isolated lactic acid bacteria as potential beneficial strains for fermented liquid pig feed production / J.A.M. Missotten, J. Goris, J. Michiels, E. Van Coillie, L. Herman, S. De Smet, N.A. Dierick, M. Heyndrickx // *Animal Feed Science and Technology*. – 2009. – № 1-2, V. 150. – P. 122-138.

431. Moll, G.N. Bactericins: mechanism of membrane insertion and pore formation / G.N. Moll // *Antonie van Leeuwenhoek*. – 1999. – 76(1-4). – P. 185-198.
432. Mountzouris, K.C. Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins and cecal microflora composition / K. C. Mountzouris, P. Tsitrsikos, I. Palamidi // *Poultry Science*. – 2010. – Vol. 89. – P. 58-67.
433. Naqid, I.A. Prebiotic and probiotic agents enhance antibody-based immune responses to *Salmonella* Typhimurium infection in pigs / I.A. Naqid, J. P. Owen, B. C. Maddison, D.S. Gardner, N. Foster, M. A. Tchórzewska, R. M. La Ragione, K.C. Gough // *Animal Feed Science and Technology*. – 2015. – № 3, V. 201. – P. 80-88.
434. Nes, I.F. Novel lantibiotics and their pre-peptides. / I.F. Nes, J.R. Tagg // *Antonie Van Leeuwenhoek*. – 1996. – 69, № 2. – P. 89-97.
435. Nemcova, R. Criteria for selection of lactobacilli for probiotic use / R. Nemcova // *Vet Med*. – 1997. - № 1, 42. – P. 19-27.
436. Ouwehand, A.C. Probiotics: an overview of beneficial effects / A.C. Ouwehand, S. Salminen, E. Isolauri // *J. Microbiol*. – 2003. – Vol. 41, №2. – P. 63-72.
437. Pajarillo, E.A.B. Effects of probiotic *Enterococcus faecium* NCIMB 11181 administration on swine fecal microbiota diversity and composition using barcoded pyrosequencing / E. A. B. Pajarillo, J.P. Chae, M. P. Balolong, H. B.Kim, C.-S. Park, D.-K. Kang // *Animal Feed Science and Technology*. 2015. – №3, V. 201. – P. 80-88.
438. Panasiuk, I. Screening strains for fermentation of meat raw material / I. Panasiuk, S. Danylenko, G. Cherednichenko // *Ukrainian Food Journal* – 2014. –v. 2. № 1. – P. – 29-34.
439. Papamanoli, E. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties / E. Papamanoli, N. Tzanetakis., E. Litopoulou-Tzanetaki., P.

Kotzekidou // *Meat Science*. – 2003. – Vol. 65, № 2. – P. 859-867.

440. Papamanoli, E. Characterization of Micrococcaceae isolated from dry fermented sausages / E. Papamanoli, P. Kotzekidou, N. Tzanetakis, E. Litopoulou-Tzanetaki // *Food Microbiology*. – 2002. – Vol. 19, № 5. – P. 441-449.

441. Paramithiotis, S. In vitro assessment of properties associated with the survival through the gastrointestinal tract of staphylococci isolated from traditional sausages fermentation / S. Paramithiotis, I. Melissari, E.H. Drosinos // *Food Microbiol.* – 2006. – № 7, V. 23. – P. 663-671.

442. Pisacane, V. Microbial analyses of traditional Italian salami reveal microorganisms transfer from the natural casing to the meat matrix. / V. Pisacane, M.L. Callegari, E. Puglisi, G. Dallolio, A. Rebecchi // *Int J Food Microbiol.* - 2015. - v. 17, 207. – P. 57-65. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.029. Epub 2015 Apr 24.

443. Potipaeva, M.M. Food supplements and protein preparations for the meat industry. Uchebnoe posobie: Kemerovskii tehnologicheskii institut pishhevoi promyshlennosti / M.M. Potipaeva, G.V. Gurinovich, I.S. Patrakova, M.V. Patshina. – Kemerov, 2008. – 168 p.

444. Pridmore, D. Variacin, a New Lanthionine-Containing Bacteriocin Produced by *Micrococcus varians*: Comparison to Lacticin 481 of *Lactococcus lactis* / D. Pridmore, N. Rekhif, A.C Pittet., B. Suri, B. Mollet B // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1996. – Vol. 62, № 5. – P. 1799-1802.

445. Pröller, T. Maßgeschneiderte Kulturen zur schnellen und sicheren Herstellung von Rohwurst / T. Pröller // *Die Fleischerei*. – 1994. – №6. – P. 24-28, 58-59, 73 .

446. Ratsimba, A. Staphylococcal ecosystem of kitoza, a traditional malagasy meat product / A. Ratsimba, S. Leroy, J.P. Chacornac, D. Rakoto, E. Arnaud, V. Jeannoda, R. Talon. // *Int J Food Microbiol.* – 2017. – 246, № 4. – P. 20-24.

447. Resch, M. Antibiotic resistance of coagulase-negative staphylococci associated with food and used in starter cultures / M. Resch, V. Nagel, C. Hertel, M. Resch // *Int. J. Food Microbiol.* – 2008. – № 1-2, V. 127. – P. 99-104.
448. Ribeiro, T. Antibiotic Resistance and Virulence Factors among Enterococci Isolated from Chourico, a Traditional Portuguese Dry Fermented Sausage / T. Ribeiro, M. Oliveira, M.J. Fraqueza, A. Lauková, M. Elias, R. Tenreiro, A.S. Barreto, T. Semedo-Lemsaddek // *J Food Prot.* – 2011. – 74, №3. – C. 465-469.
449. Richardson, D. Probiotics and product innovation / Richardson D. // *Nutr. Food Sci.* — 1996. — N 4. — P. 27–33.
450. Rodríguez, M. Evaluation of proteolytic activity of microorganisms isolated from dry cured ham / M. Rodríguez, F. Núñez, J.J. Córdoba, M.E. Bermúdez, M.A. Asensio // *J. Appl. Microbiol.* – 1998. – 85(5). – P. 905-912.
451. Roseiro, L.C. Effect of processing on proteolysis and biogenic amines formation in a Portuguese traditional dry-fermented ripened sausage “Chouriço Grosso de Estremoz e Borba PGI” / L.C. Roseiro, A. Gomes, H. Gonçalves, M. Sol, R. Cercas, C. Santos // *Meat Sci.* – 2010. – № 1 V. 84. – P. 172-179.
452. Ross, R.P. Preservation and fermentation: past, present and future / R.P. Ross, S. Morgan, C. Hill // *Int. J. Food Microbiol.* – 2002. – 79(1). – P. 3-16.
453. Scheuermann, S.E. Effect of the probiotic Paciflor® (CIP 5832) on energy and protein metabolism in growing pigs / S.E. Scheuermann // *Animal Feed Science and Technology.* – 1993. – № 3, V. 41. – P. 181-189.
454. Selgas, M.D. Selected characteristics of micrococci isolated from Spanish dry fermented sausages / M.D. Selgas, B. Sanz, J.A. Ordonez // *Food Microbiol.* – 1988. – 5(4). – P. 185-193.
455. Shah, N.P. Isolation and enumeration of bifidobacteria in fermented milk products : A review / N.P. Shah // *Milchwissenschaft.* – 1997. – 52, No. 2. – P. 72-75.
456. Shon, K.S. Effects of *Lactobacillus reuteri* -based Direct-fed Microbial Supplementation for Growing-Finishing Pigs / K. S. Shon, J. W. Hong,

O. S. Kwon, B. J. Min, W. B. Lee, I. H. Kim, Y. H. Park, I. S. Lee // Asian-Aust. J. Anim. Sci. – 2005. – № 3, V. 18. – P. 370-374.

457. Sidira, M. Effective survival of immobilized *Lactobacillus casei* during ripening and heat treatment of probiotic dry-fermented sausages and investigation of the microbial dynamics / M. Sidira, A. Karapetsas, A. Galanis, M. Kanellaki, Y. Kourkoutas. // Meat Sci. – 2014. – 96, № 2(Pt A). – P. 948-955.

458. Simonová, M. Characterization of *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus carnosus* isolated from Slovak meat products/ M. Simonová, V. Strompfová, M. Marciňáková, A. Lauková, S. Vesterlund, M.L. Moratalla, S. Bover-Cid, C. Vidal-Carou // Meat Sci. – 2006. – №4, V. 73. – P. 559-564.

459. Stackebrandt, E. Taxonomic dissection of the genus *Micrococcus*: *Kocuria* gen. nov., *Nesterenkonia* gen. nov., *Kytococcus* gen. nov., *Dermacoccus* gen. nov., and *Micrococcus* Cohn 1872 gen. emend / E. Stackebrandt, C.Koch, O.Gvozdiak, P.Schumann // International Journal of Systematic Bacteriology. – 1995. – №4. – P. 682-692.

460. Suo, C. Effects of *lactobacillus plantarum*ZJ316 on pig growth and pork quality / C. Suo, Y. Yin, X. Wang, X. Lou, D. Song, X. Wang, Q. Gu // BMC Veterinary Research – 2012. – № 8, V. 89. – P. 1-12.

461. Tabanelli, G. Effects of starter cultures and fermentation climate on the properties of two types of typical Italian dry fermented sausages produced under industrial conditions / G. Tabanelli, F. Coloretti, C. Chiavari, L. Grazia, R. Lanciotti, F. Gardini // Food Control. – 2012. – 26(2). – P. 416-426.

462. Talon, R. Safety improvement and preservation of typical sensory qualities of traditional fermented sausages using autochthonous starter cultures / R. Talon, S. Leroy, I. Lebert, P. Giammarinaro, J.P. Chacornac, M. Latorre-Moratalla, C. VidalCarou, E. Zanardi, M. Conter, A. Lebecque // Int. J. Food Microbiol. – 2008. – № 1-2, V. 126. – P. 227-234.

463. The company Soyuzsnab. Starter cultures for meat industry.
<http://aibi-ssnab.ru/ru/catalog/meat/group/5/product/79>

464. Vamanu, E. Viability of the *Lactobacillus rhamnosus* IL1 strain in simulated gastrointestinal conditions / E. Vamanu, A. Vamanu // Int. J. Pharmacol. – 2010. – Vol. 6. – P. 732-737.
465. Пат. № 6063410 США, МКИ А 23 L 1/31, А 23 L 1/08. Method and compositions for improved flavor and aroma in fermented meat / Vedamuthu E. R., Trius A., Vlegels P. A. P., Quest International Flavors & Food Ingredients Company. – № 09/042884, заявл. 17.03.98, опубли. 16.05.2000. – 4 с.
466. TC Vympel Pishhevye dobavki firmy VAN HEES Startovye kul'tury dlja syropchenyh kolbas i cel'nomyshechnyh syropchenyh produktov. <http://www.tcvympel.ru/vanhees/vanhees.shtm>.
467. Walker, R. M. Probiotic microbes: the scientific basis / R.M. Walker, M. Buckley // A report from the American Academy of Microbiology. – 2006.
468. Wand, H., Gabert A., Uhlig H. Einfache Methode zum Nachweis mikrobieller Lipase / H. Wand, A. Gabert, H. Uhlig // Zb. Allg. Microbiol. – 1980. – 20. – P.291-293.
469. Wolupeck, H.L. Methods for the evaluation of antibiotic resistance in *Lactobacillus* isolated from fermented sausages / H L. Wolupeck, C.A. Morete, O.R. DallaSanta, F.B. Luciano, H.M.F. Madeira, R.E.F. de Macedo // Cienc. Rural. – 2017. – vol.47, №8. – P. 1-7. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20160966>
470. Yu, B. Evaluation of *Lactobacillus reuteri* Pg4 strain expressing heterologous β -glucanase as a probiotic in poultry diets based on barley / B. Yu, J.R. Liu, F.S. Hsiao, P.W.S. Chiou // Animal Feed Science and Technology. – 2008. – № 1-2, V. 141. – P. 82-91.
471. Zhang, Z.F. Effects of multistrain probiotics on growth performance, apparent ileal nutrient digestibility, blood characteristics, cecal microbial shedding, and excreta odor contents in broilers / Z.F. Zhang, I.H. Kim // Poultry science. – 2014. – Vol. 93(2). – P. 364-370.
472. Zhang, Z.F. Effects of *Enterococcus faecium* DSM 7134 supplementation in different energy and crude protein density diets on ileal amino acid digestibility and intestinal shedding of lactobacilli and *Escherichia coli* in

finishing pigs / Z.F. Zhang, I.H. Kim // *Animal Feed Science and Technology*. – 2015. – V. 201. – P. 115-119.

473. Zhao, P.Y. Effect of direct-fed microbial on growth performance, nutrient digestibility, fecal noxious gas emission, fecal microbial flora and diarrhea score in weanling pigs / P.Y. Zhao, I.H. Kim // *Animal Feed Science and Technology*, 2015. – Vol. 200. – P. 86-92.

474. Zdolec, N. Microbial and physicochemical succession in fermented sausages produced with bacteriocinogenic culture of *Lactobacillus sakei* and semi-purified bacteriocin mesenterocin Y / N. Zdolec, M. Hadziosmanovic, L. Kozacinski, Z. Cvrtila, I. Filipovic, M. Skrivanko, K. Leskovar // *Meat Science*. – 2008. – 80. – P. 480-487.

ДОДАТОК А. Характеристика перспективних штамів

Додаток А1

Таблиця А. 1

Морфологічна та фізіологічна характеристика штамів біфідобактерій

Параметр и	<i>B. gallinarum</i> 4700	<i>B. suis</i> 4500	<i>B. infantis</i> 4302	<i>B. adolescen tis</i> 4407	<i>B. pullorum</i> 4601	<i>B. longum</i> 4206	<i>B. bifidum</i> 4108
Кількість штамів							
1	2	3	4	5	6	7	8
Форма клітини в середовищі і Блаурок	Клітини прямі або трохи вигнуті. Розміри клітин варіюють: ширина від 0,7 до 0,9 мкм та довжина 1,0-2,0 мкм. Розташову ються поодинокі, або у вигляді невеликих скупчень	Палички з потовщен ням на одному чи обох кінцях клітини різні за товщиною, поодинок і або утворюю ть невеликі скупченн я	Палички неправиль ної форми, з булаво- подібними потовщенн ями, на кінцях вигнуті, іноді овальні	Палички різні за товщиною, іноді з потовщен ням на одному кінці клітини; поодинок і або в коротких ланцюжк ах	Палички різні за товщиною, іноді з потовщен ням на одному кінці клітини; поодинок і або в коротких ланцюжк ах	Палички з потовщен ням на одному чи обох кінцях клітини різні за товщиною; поодинок і або утворюю ть не великі скупченн я	Палички неправиль ної форми, з булаво- подібними потовщенн ями, вигнуті, іноді овальні
Спектр ферментов аних вуглеводів	арабіноза, лактоза, глюкоза, сахароза, мальтоза, галактоза, рамноза, декстрин, маноза	рамноза, декстрин, ксилоза, мелібіоза , сахароза, галактоза , мальтоза, арабіноза , рафіноза	глюкоза, лактоза, галактоза, сахароза, мальтоза, рафіноза	глюкоза, лактоза, галактоза , мальтоза, рафіноза, сахароза, ксилоза, арабіноза	мальтоза, трегалоза , маноза, лактоза, мальтоза, маніт, фруктоз, декстрин, рафіноза,	глюкоза, сахароза, лактоза, ксилола, галактоза , маноза, мальтоза, рафіноза,	глюкоза, лактоза, галактоза, сахароза, мальтоза, рафіноза

Продовження табл. А1

1	2	3	4	5	6	7	8
Вугево ди, що не фермен тує	рамноза, маніт, сорбіт, дульцит, рибоза, трегалоза.	рибоза, целобіоза, меліцитоза , сорбіт, тригалоza, маніт.	рамноза, ксилоза, маноза, арабіноза, маніт, сорбіт, гліцерин	рамноза, маноза, маніт, сорбіт, гліцерин	арабіноза, сорбіт, декстрин, рібоза, рамноза, ксілоза, целобіоза, меліцитоза .	маніт, сорбіт, рамноза, гліцерин	рамноза, ксилоза, маноза, арабіноза, маніт, сорбіт, гліцерин
Форма колоній в ГМ	Диск діаметром 2-3 мм у товщі середовищ і, вигляд комети у напівтверд ому середовищ і	Гречане зерно у твердому середовищ і у вигляді гвіздочків у напівтверд ому середовищ і	Гречане зерно або диски у твердому середовищ і, у вигляді гвіздочків у напівтверд ому середовищ і	Гречане зерно або диски у твердому середовищ і, у вигляді гвіздочків у напівтверд ому середовищ і	Диск діаметром 2-3 мм у твердому середовищ і, у напівтверд ому середовищ і у вигляді комети	Гречане зерно або диски у твердому середовищ і, у вигляді гвіздочків у напівтверд ому середовищ і	Гречане зерно або диски у твердому середовищ і, у вигляді гвіздочків у напівтверд ому середовищ і

Додаток А2

Оцінка промислового потенціалу відібраних штамів

Для визначення технологічної перспективи ізольовані штами молочнокислих та біфідобактерій було досліджено за сукупністю технологічних показників: здатність до розвитку на промислових середовищах, стабільність популяції та збереження її функціональної активності за багаторазового пасажування, МЗА, гранична кислотність, продуктивність. Результати цих досліджень подано у таблиці 3.9. Дослідження штамової та пасажної мінливості МКБ і ББ, відібраних культур, показало високий ступінь гомогенності популяцій. Досліджені молочнокислі палички характеризувались широким діапазоном молокозсідальної активності (МЗА) (6-14 год.), коефіцієнти варіації (КВ) для культур коливалися від 9,6 до 16,5 % (табл. А.2.1). Найстабільнішими були популяції *L. paracasei sp.paracasei* та *L. fermentum* (КВ коливався в межах 10 %). За цим показником культура *L. plantarum* була найменш гомогенною із всіх обстежених (КВ – 16,5 %).

Зафіксовані відмінності і за граничною кислотністю та енергією кислотоутворення (табл. 3.8), так, для МКБ коефіцієнт варіації майже для всіх культур був меншим 10 %. Такі результати збігаються з літературними даними, за якими молочнокислим паличкам притаманний широкий діапазон значень цього показника: від 80 °Т до 350 °Т.

Штами *L. delbrueckii ssp bulgaricus* 3520 та *L. paracasei sp.paracasei* 3800 вирізнялися найвищою гетерогенністю як за енергією кислотоутворення так і за МЗА (КВ = 5,1-10,7 %). Менш стабільними була популяція штаму *L. plantarum*, КВ якої за показником енергії кислотоутворення склав 10,1 % . Слід зазначити, що така мінливість культур за умов виробництва не є бажаною.

Критеріями для оцінки стійкості біологічної активності у популяції біфідобактерій було обрано такі характеристики як середній показник адгезії

та антагоністична активність стосовно патогенного штаму *E. coli* 0111, *E. coli* К-59. Встановлено, що кожна із популяцій досліджених біфідобактерій була доволі стабільною за адгезивною здатністю та проявом антагоністичної активності - КВ коливався в діапазоні 2,3-5,1 % і 5,6 % - 8,3 6,2% відповідно (табл. А.2.2). Ці результати дають нам підстави класифікувати штами ББ за згаданими властивостями як мало мінливі. Слід зазначити, що через 20 пасажів популяція набула більшої гомогенності за всіма дослідженими параметрами, що свідчить про її доцільність до використання у дослідних умовах.

Таблиця А.2.1

Штамова мінливість молочнокислих бактерій за показниками енергії кислотоутворення, МЗА та граничною кислотністю

Штами	Молокозсідальна активність, год			Енергія кислотоутворення, °Т			Гранична кислотність, °Т		
	М±m	число варіантів	КВ, %	М±m	число варіантів	КВ, %	М±m	число варіантів	КВ, %
<i>L. plantarum</i> 3207	10±0,5	25	16,5	82±3	21	10,1	145±15	15	15,6
<i>L. fermentum</i>	14±0,6	21	10,0	85±2,5	25	5,8	110±10	18	9,1
<i>L. rhamnosus</i> 3333	10±0,3	22	15,4	81±2	20	5,4	115±8	20	8,7
<i>L. casei</i> 3223	11±0,3	18	11,9	110±5	20	6,9	122±6	25	10,9
<i>L. helveticus</i> 3605	8±0,2	25	12,4	119±4	25	8,5	220±15	15	7,1
<i>L. delbrueckii ssp bulgaricus</i> 3520	6±0,3	20	10,3	130±4	22	5,1	340±22	20	4,2
<i>L. paracacei sp.paracasei</i> 3800	11±0,5	25	9,6	100±4	20	6,2	160±14	30	9,9

Таблиця А.2.2

Стабільність технологічних властивостей штамів біфідобактерій

Біфідобактерії	Анагоністична активність до <i>E. coli</i> 0111, мм			Середній показник адгезії			МЗА, год	Гранична кислотність, °T	Чисельність за оптичною густиною, од.Е
	Кількість варіантів	$M \pm m$	KB, %	Кількість варіантів	$M \pm m$	KB, %			
<i>B. adolescentis</i> 4407	20	19,8±1,4	8,0	12	4,84±0,4	3,9	14±1	150±5	0,32±0,06
<i>B. longum</i> 4206	22	24,4±1,7	6,8	14	4,45±0,8	3,2	12±2	130±5	0,28±0,04
<i>B. suis</i> 4500	18	20,0±2,7	6,9	16	4,66±0,4	4,3	14±1	140±5	0,31±0,06
<i>B. infantis</i> 4302	24	10,5±1,6	7,6	12	2,54±0,3	6,4	13±2	135±3	0,30±0,08
<i>B. pullorum</i> 4601	20	17,8±1,3	5,6	15	4,12±0,25	2,3	14±2	140±2	0,34±0,06
<i>B. gallinarum</i> 4700	26	20,5±1,7	8,3	16	3,57±0,5	5,1	16±1	160±4	0,32±0,05

Таблица А.3

Фізіолого-біохімічні ознаки молочнокислих бактерій, виділених із різних природних джерел

[illegible]

Продовження табл. А.3

Відновлення нітриту із нітрату	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
Каталазна активність	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ріст у молоці за температури, °C											
- 15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- 45	+	+	+	+	±	+	+	-	±	±	-
Зброджування вуглеводів:											
арабіноза	±	-	-	-	±	-	±	+	+	-	-
фруктоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
галактоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
глюкоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
лактоза	+	+	+	-	+	+	±	+	±	-	±
мальтоза	-	±	±	-	+	-	-	+	+	±	+
маніт	±	±	+	+	+	+	±	-	-	-	-
маноза	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+
мелецитоза	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	-	-	-	-
мелібіоза	-	-	-	-	+	±	±	+	±	-	-
рафіноза	-	-	-	+	+	+	±	-	-	-	-
рамноза	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
сорбіт	±	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
цукроза	±	±	-	+	+	+	±	+	±	-	-
ксилоза	-	-	-	-	±	±	±	-	-	-	-

Позначення. “+” – позитивний результат; “-” – негативний результат; “±” – варіабельний результат; “Н” – не визначали, “ВЗ” – відновлюють, згортають

Продовження табл. А.4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Ріст за 37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ріст на безсольовому агарі																	
- 30°C	+	+	±	±	±	-	+	±	+	+	+	±	±	+	+	+	+
- 43°C	-	-	-	-	-		+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	±
Гідроліз крохмалю	+	+	±	±	+	+	-	±	-	±	-	-	-	±	-	+	+
Розрідження желатину	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+
Утворення аміаку з аргініну	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Відновлення нітриту з нітрату	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	±
Ріст у МПБ з NaCl, %																	
- 6,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- 7,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
- 10	-	±	-	-	-	-	+	+	-	-	-	±	-	-	-	-	-
Ріст у МПБ за температури, °C																	
- 15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±-
- 45	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	±	

Продовження табл. А.4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Ріст у ГБ з NaCl, %																	
- 6,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- 7,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-
- 10	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+		-
Ріст на агарі з NaCl, %																	
- 10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+
- 15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ріст в МПБ з рН																	
- 8,3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
- 9,2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
- 9,6	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Ріст у ГБ із жовчю, %																	
- 20	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+
- 40	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Каталазна активність	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Лужна фосфатаза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Пігмент	П	Ж	Ж	Ж	Ж	Ж	Р	Р	Р	Р	Р	Ж	Ж	Ж	Ж	Ж	СЖ
Рухливість	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Утворення ацетоїну	+	+	сл.	сл.	±	+	+	+	+	-	-	+	±	+	±	±	±

Продовження табл. А.4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Зброджування вуглеводів:																	
ксилоза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
арабиноза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
рафіноза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	±	-	-
сахароза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
мальтоза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-
маніт	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
манноза	-	-	-	-	±	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
лактоза	-	-	±	-	±	-	-	±	-	-	-	-	-	±	-	-	-
галактоза	±	-	±	-	±	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-
фруктоза	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	+	-	-	±	-
рамноза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
сорбит	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
глюкоза	+	-	+	-	±	-	-	-	±	-	-	-	±	±	-	-	-

Позначення. “+” – позитивний результат; “-” – негативний результат; “±” – варіабельний результат; “сл” – слабка реакція; “П”- помаранчевий; “Ж” – жовтий; “Р” – рожевий; “Б” - білий.

Таблиця А.5

Фізіолого-біохімічні ознаки штамів коагулазонегативних стафілококів, виділених з ферментованих м'ясних продуктів

	<i>S. carnosus</i> 5400	<i>S. carnosus</i> 5402	<i>S. hominis</i> 5100	<i>S. hominis</i> 5101	<i>S. lentus</i> 5102	<i>S. lentus</i> 5103	<i>S. saprophyticus</i> ssp. 5304	<i>S. saprophyticus</i> ssp. 5305	<i>S. simulans</i> 5301	<i>S. simulans</i> 5302	<i>S. simulans</i> 5303	<i>S. xylosus</i> 5800	<i>S. xylosus</i> 5801	<i>S. epidermis</i> 5104
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Фарбування за Грамом	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Каталаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Анаеробна ферментація глюкози	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Гідроліз гліцерину	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ріст на фуразолідоновому агарі	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Коагулаза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Відновлення нітриту з нітрату	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Пігментація колонії	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+

Продовження таблиці А.5

Утворення аміаку з аргініну	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	±
Лужна фосфатаза	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	+	-	±
Зброджування вуглеводів:														
арабиноза	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+		-
галактоза	+	±	-	-	-	-	±	+	-	-	-	+		±
глюкоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+
ксилоза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
лактоза	+	+	-	-	±	-	-	-	±	+	+	-	+	+
мальтоза	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+
маніт	+	+	-	-	+	+	-	+	±	+	±	+	-	-
манноза	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
рафіноза	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-
сахароза	-	±	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+
фруктоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-	±
Розрідження желатину	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	±	-	+	+
Ріст на агарі з додаванням:														
10 % NaCl	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15 % NaCl	+	+	-	±	-	-	+	+	+	+	-	±	-	±
pH 6,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9,2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9,6	+	±	+	-	-	-	+	+	-	-	±	-	-	+
Температура	+	+	±	±	-	-	+	+	+	+	+	+	+	±
15 45	+	±	+	+	-	-	+	±	+	-	±	+	+	±

Позначення. “+” – позитивний результат, “-” – негативний результат, “±” – варіабельний результат

Додаток Б. Свідоцтва про депонування

Б1

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України

Кому видано: Інститут продовольчих ресурсів НАН України. 02002.
(прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і(або))

м. Київ, вул. М.Раскової, 4-А. Автор Даниленко С.Г.
повна назва організації-депозитора та їх адреса

Цим підтверджується, що штам мікроорганізму:

Lactobacillus plantarum 3207

(назва і позначення (номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором)

первісно депонований в:

Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України
(повна назва Депозитарію)

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Lactobacillus plantarum IMB B-7555

Супроводжувальна документація від депозитора одержана:

Паспорт, договір 119-2014
(паспорт, довідка про непатогенність)

Дата первісного депонування: **11 грудня 2015 року**

Директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України



11 грудня 2015 року

Адреса: 03143 Київ, вул. Заболотного, 154
www.imv.kiev.ua

Handwritten signature

Головач Т.М., GolovachT@ukr.net

Б2

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України

Кому видано: Технологічний інститут молока та м'яса НААНУ, 02002, м. Київ,
(прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і(або)

вул. М.Раскової, 4а. Автори: Кігель Н.Ф., Даниленко С.Г.
повна назва організації-депозитора та їх адреса

Цим підтверджується, що штам мікроорганізму: _____
(назва і позначення)

Lactobacillus rhamnosus 3333

(номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором)

первісно депонований в:

Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України
(повна назва Депозитарію)

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Lactobacillus rhamnosus IMB B-7379

Супроводжувальна документація від депозитора одержана:

Паспорт

(паспорт, довідка про непатогенність)

Дата первісного депонування: 27 січня 2012 року

Директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України

Головач



Адреса: ГСП Д03680, Київ, вул. Заболотного, 154
www.imv.kiev.ua;
Golovach@serv.imv.kiev.ua

БЗ

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України

Кому видано: Інститут продовольчих ресурсів НААНУ, 02002, м. Київ,
(прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і (або))

вул. М.Раскової, 4а. Автори: Кігель Н.Ф., Даниленко С.Г.
повна назва організації-депозитора та їх адреса

Цим підтверджується, що штаму мікроорганізму: _____
(назва і позначення)

Lactobacillus acidophilus 3112

(номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором)

первісно депонований в:

Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України
(повна назва Депозитарію)

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Lactobacillus acidophilus IMB B-7416

Супроводжувальна документація від депозитора одержана:

Паспорт штаму, договір 106-2013
(паспорт, довідка про непатогенність)

Дата первісного депонування: 27 січня 2013 року

Директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України

В.С. Підгорський
М.П.



Адреса: ГСП Д03680, Київ, вул. Заболотного, 154
www.imv.kiev.ua;
Golovach@serv.imv.kiev.ua

27 січня 2013 року

Б4

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України

Кому видано: Інститут продовольчих ресурсів НААН України. Адреса: 02002.
(прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і(або))

м. Київ, вул. М.Раскової, 4а. Автори: Даниленко С.Г., Кігель Н.Ф., Панасюк І.В.
повна назва організації-депозитора та їх адреса

Цим підтверджується, що штам мікроорганізму:

Bifidobacterium infantis 4302

(назва і позначення (номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором)

первісно депонований в:

Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України

(повна назва Депозитарію)

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Bifidobacterium infantis IMB B-7454

Супроводжувальна документація від депозитора одержана:

Паспорт штаму, договір 112-2013.

(паспорт, довідка про непатогенність)

Дата первісного депонування: 26 грудня 2013 року

Директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України



Адреса: ГСП Д03680, Київ, вул. Заболотного, 154

www.imv.kiev.ua;

Golovach@serv.imv.kiev.ua

26 грудня 2013 року

Б5

СВІДОЦТВО

**про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України**

Кому видано: Інститут продовольчих ресурсів НААН України. Адреса: 02002,
(*прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і(або)*)

м. Київ, вул. М.Раскової, 4а. Автор: Даниленко С.Г.
(*повна назва організації-депозитора та їх адреса*)

Цим підтверджується, що штам мікроорганізму:

Bifidobacterium pullorum 4601

(*назва і позначення (номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором*)

первісно депонований в:

Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України

(*повна назва Депозитарію*)

Ресстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Bifidobacterium pullorum IMB B-7455

Супроводжувальна документація від депозитора одержана:

Паспорт штаму, договір 112-2013.

(*паспорт, довідка про непатогенність*)

Дата первісного депонування: 26 грудня 2013 року

Директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України



Адреса: ГСП 003680, Київ, вул. Забєлутного, 154

www.imv.kiev.ua;

Golovach@serv.imv.kiev.ua

Б6

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України

Кому видано: Інститут продовольчих ресурсів НААН України. Адреса: 02002,
(прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і(або))

м. Київ, вул. М.Раскової, 4а. Автори: Даниленко С.Г., Гарда С.О.,
повна назва організації-депозитора та їх адреса

Цим підтверджується, що штам мікроорганізму:

Lactobacillus paracasei ssp. paracasei 3800

(назва і позначення (номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором)

первісно депонований в:

Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України

(повна назва Депозитарію)

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Lactobacillus paracasei ssp. paracasei IMB B-7458

Супроводжувальна документація від депозитора одержана:

Паспорт штаму, договір 112-2013.

(паспорт, довідка про непатогенність)

Дата первісного депонування: **26 грудня 2013 року**

Директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України

В.С.Піжовський

В.С.Піжовський



Адреса: ГСП Д03680, Київ, вул. Заболотного, 154

www.imv.kiev.ua;

Golovach@serv.imv.kiev.ua

Б7

СВІДОЦТВО

**про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України**

Кому видано: Інститут продовольчих ресурсів НААН України. Адреса: 02002,
(прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і(або))

м. Київ, вул. М.Раскової, 4а. Автори: Даниленко С.Г., Кігель Н.Ф., Гарда С.О.,
повна назва організації-депозитора та їх адреса

Цим підтверджується, що штамп мікроорганізму:

Lactobacillus paracasei ssp. paracasei 3801

(назва і позначення (номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором)

первісно депонований в:

Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України

(повна назва Депозитарію)

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Lactobacillus paracasei ssp. paracasei IMB B-7457

Супроводжувальна документація від депозитора одержана:

Паспорт штаму, договір 112-2013.

(паспорт, довідка про непатогенність)

Дата первісного депонування: 26 грудня 2013 року

Директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України



Адреса: ГСП Д03680, Київ, вул. Заболотного, 154

www.imv.kiev.ua;

Golovach@serv.imv.kiev.ua

Б8

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України

Кому видано: Технологічний інститут молока та м'яса УААН, 02002, м. Київ,
(прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і(або))

вул. М.Раскової, 4а. Автори: Даниленко С.Г., Кігель Н.Ф.
повна назва організації-депозитора та їх адреса

Цим підтверджується, що штам мікроорганізму: _____
(назва і позначення)

Bifidobacterium suis 4500

(номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором)

первісно депонований в:

Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України
(повна назва Депозитарію)

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Bifidobacterium suis IMB B-7291

Супроводжувальна документація від депозитора одержана:

Паспорт

(паспорт, довідка про непатогенність)

Дата первісного депонування: **30 грудня 2009 року**

Директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України

В.С.Підгорський
М.П.

Адреса: ГСП Д03680, Київ, вул.Заболотного, 154
www.imv.kiev.ua;
Golovach@serv.imv.kiev.ua

30 грудня 2009 року

Б9

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України

Кому видано: Інститут продовольчих ресурсів НААН України. 02002.
(прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і/або)
м. Київ, вул. М.Раскової, 4-А. Автор Даниленко С.Г.
повна назва організації-депозитора та їх адреса

Цим підтверджується, що штам мікроорганізму:

Lactobacillus rhamnosus 3306
(назва і позначення (номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором)
первісно депонований в:

Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України
(повна назва Депозитарію)

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Lactobacillus rhamnosus IMB B-7556

Супроводжувальна документація від депозитора одержана:

Паспорт, договір 119-2014
(паспорт, довідка про непатогенність)

Дата первісного депонування: **11 грудня 2015 року**

Директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України



Адреса: 03143 Київ, вул.Заболотного, 154
www.imv.kiev.ua;

11 грудня 2015 року

Головач Т.М., Golovach@ukr.net

Б10

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України

Кому видано: Технологічний інститут молока та м'яса НААНУ, 02002, м. Київ,
(прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і(або))

вул. М.Раскової, 4а. Автори: Кігель Н.Ф., Даниленко С.Г.
повна назва організації-депозитора та їх адреса

Цим підтверджується, що штаму мікроорганізму: _____
(назва і позначення)

***Staphylococcus carnosus* 5304**

(номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором)

первісно депонований в:

Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України
(повна назва Депозитарію)

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

***Staphylococcus carnosus* IMB B-7372**

Супроводжувальна документація від депозитора одержана:

Паспорт, висновок щодо вірулентності штаму
(паспорт, довідка про непатогенність)

Дата первісного депонування: **27 січня 2012 року**

Директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України

Головач



Адреса: ГСП Д03680, Київ, вул. Заболотного, 154
www.imv.kiev.ua;
Golovach@serv.imv.kiev.ua

B11

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України

Кому видано: Інститут продовольчих ресурсів НААН України. Адреса: 02002,
(прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і(або)

м. Київ, вул. М.Раскової, 4а. Автори: Даниленко С.Г.,
повна назва організації-депозитора та їх адреса

Цим підтверджується, що штам мікроорганізму:

Lactobacillus brevis 3900

(назва і позначення (номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором)

первісно депонований в:

Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України
(повна назва Депозитарію)

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Lactobacillus brevis IMB B-7456

Супроводжувальна документація від депозитора одержана:

Паспорт штаму, договір 112-2013,
(паспорт, довідка про непатогенність)

Дата первісного депонування: 26 грудня 2013 року

Директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України



Адреса: ГСП Д03680, Київ, вул. Заболотного, 154
www.imv.kiev.ua;
Golovach@serv.imv.kiev.ua

26 грудня 2013 року

Б12

СВІДОЦТВО

**про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України**

Кому видано: Технологічний інститут молока та м'яса УААН; 02660, м. Київ,
(*прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і/або*)

вул. М. Раскової, 4а. Автори: Кігель Н.Ф., Король Ц.О., Даниленко С.Г.
(*повна назва організації-депозитора та їх адреса*)

Цим підтверджується, що штаму мікроорганізму: _____
(*назва і позначення*)

Kocuria rosea 5401

(*номер, символ тощо*), надане штаму мікроорганізму депозитором)

первісно депонований в: Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України
(*повна назва Депозитарію*)

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Kocuria rosea IMB B-7273

Супроводжувальна документація від депозитора одержана: _____

Паспорт,

(*паспорт, довідка про непатогенність*)

Дата первісного депонування: 10 квітня 2009 року

Директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України



В.С.Підгорський

Адреса: МСП Д03680, Київ, вул. Заболотного, 154
www.imv.kiev.ua;
Golovach@serv.imv.kiev.ua

10 квітня 2009 року

Б13

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України

Кому видано: Технологічний інститут молока та м'яса УААН; 02660, м. Київ,
(прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і(або))

вул. М. Раскової, 4а. Автори: Кігель Н.Ф., Король Ц.О., Даниленко С.Г.
повна назва організації-депозитора та їх адреса

Цим підтверджується, що штаму мікроорганізму: _____
(назва і позначення)

Staphylococcus simulans 5301

(номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором)

первісно депонований в: Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України
(повна назва Депозитарію)

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Staphylococcus simulans IMB B-7274

Супроводжувальна документація від депозитора одержана: _____

Паспорт,

(паспорт, довідка про непатогенність)

Дата первісного депонування: 10 квітня 2009 року

Директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України



В.С.Підгорський

М.П.

Адреса: МСП Д03680, Київ, вул.Заболотного, 154
www.imv.kiev.ua;
Golovach@serv.imv.kiev.ua

10 квітня 2009 року

Б14

СВІДОЦТВО

**про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України**

Кому видано: Технологічний інститут молока та м'яса УААН; адреса: 02002, м. Київ,
(*прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і (або)*)

вул. М. Раскової, 4а; Ландик Л.О., Король Ц.О., Даниленко С.Г., Кігель Н.Ф.
(*повна назва організації-депозитора та їх адреса*)

Цим підтверджується, що штаму мікроорганізму: _____
(*назва і позначення*)

Staphylococcus simulans 5300

(*номер, символ тощо*), надане штаму мікроорганізму депозитором)

первісно депонований в: Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України.
(*повна назва Депозитарію*)

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Staphylococcus simulans IMB B- 7040

Супроводж. документація від депозитора одержана: паспорт, довідка про непатогенність.
(*паспорт, довідка про непатогенність*)

Дата первісного депонування: 25 березня 2002 року

Директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України



Адреса: 252143, Київ-143, вул. Заболотного, 154

25 березня 2002 року

Б15

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України

Кому видано: Технологічний інститут молока та м'яса УААН; 02660, м. Київ,
(*прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і(або)*)

вул. М. Раскової, 4а. Автори: Кігель Н.Ф., Король Ц.О., Даниленко С.Г.
(*повна назва організації-депозитора та їх адреса*)

Цим підтверджується, що штаму мікроорганізму: _____
(*назва і позначення*)

Lactobacillus casei subsp. rhamnosus 3305

(*номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором)*

первісно депонований в: Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України
(*повна назва Депозитарію*)

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Lactobacillus casei subsp. rhamnosus IMB B- 7271

Супроводжувальна документація від депозитора одержана: _____

Паспорт,

(*паспорт, довідка про непатогенність*)

Дата первісного депонування: 26 березня 2009 року

Директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України

В.С.Підгорський



Адреса: МСП Д03680, Київ, вул.Заболотного, 154
www.imv.kiev.ua;
Golovach@serv.imv.kiev.ua

25 березня 2009 року

B16

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України

Кому видано: Технологічний інститут молока та м'яса УААН; 02660, м. Київ,
(прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і(або))

вул. М. Раскової, 4а. Автори: Кігель Н.Ф., Король Ц.О., Даниленко С.Г.
повна назва організації-депозитора та їх адреса

Цим підтверджується, що штаму мікроорганізму: _____
(назва і позначення)

Lactobacillus casei subsp. rhamnosus 3308

(номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором)

первісно депонований в: Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України
(повна назва Депозитарію)

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Lactobacillus casei subsp. rhamnosus IMB B- 7272

Супроводжувальна документація від депозитора одержана: _____

Паспорт,

(паспорт, довідка про непатогенність)

Дата первісного депонування: 26 березня 2009 року

Директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України



Адреса: МСП Д03680, Київ, вул. Заболотного, 154
www.imv.kiev.ua;
Golovach@serv.imv.kiev.ua

25 березня 2009 року

B17

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України

Кому видано: Технологічний інститут молока та м'яса УААН: 02002, м. Київ,
(прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і(або)

вул. М.Раскової, 4а; Король Ц.О., Даниленко С.Г., Кігель Н.Ф.
повна назва організації-депозитора та їх адреса

Цим підтверджується, що штаму мікроорганізму: _____
(назва і позначення)

Lactobacillus casei ssp. casei 6007

(номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором)

первісно депонований в: Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України,
(повна назва Депозитарію)

Регістраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Lactobacillus casei ssp. casei IMB B- 7119

Супроводжувальна документація від депозитора одержана: _____ паспорт _____
(паспорт, довідка про непатогенність)

Дата первісного депонування: 9 грудня 2004 року

директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України



Адреса: 252143, Київ-143, вул. Заболотного, 154 9 грудня 2004 року

B18

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України

Кому видано: Технологічний інститут молока та м'яса УААН; 02002, м. Київ,
(прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і(або)

вул. М.Раскової, 4а; Кігель Н.Ф., Даниленко С.Г., Король Ц.О.
повна назва організації-депозитора та їх адреса

Цим підтверджується, що штамп мікроорганізму: _____
(назва і позначення

Lactobacillus casei ssp. casei 6002

(номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором)

первісно депонований в: Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України.
(повна назва Депозитарію)

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Lactobacillus casei ssp. casei IMB B- 7120

Супроводжувальна документація від депозитора одержана: _____ паспорт _____
(паспорт, довідка про непатогенність)

Дата первісного депонування: 9 грудня 2004 року

директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України



Б.19

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України

Кому видано: Технологічний інститут молока та м'яса УААН: 02002, м. Київ,
(прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і/або)

вул. М.Раскової, 4а; Кігель Н.Ф., Даниленко С.Г., Король Ц.О.
повна назва організації-депозитора та їх адреса

Цим підтверджується, що штам мікроорганізму: _____
(назва і позначення)

Lactobacillus plantarum 2037

(номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором)

первісно депонований в: Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України.
(повна назва Депозитарію)

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Lactobacillus plantarum IMB B- 7121

Супроводжувальна документація від депозитора одержана: паспорт
(паспорт, довідка про непатогенність)

Дата первісного депонування: 9 грудня 2004 року

директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України



Адреса: 252143, Київ-143, вул.Заболотного, 154

Б.20

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України

Кому видано: Технологічний інститут молока та м'яса УААН: 02002, м. Київ,
(*прізвище, ім'я, по батькові автора (авторів) і(або)*)

вул. М. Раскової, 4а; Король Ц.О., Даниленко С.Г., Кігель Н.Ф.,
(*повна назва організації-депозитора та їх адреса*)

Цим підтверджується, що штамп мікроорганізму: _____
(*назва і позначення*)

Micrococcus roseus 6-3

(*номер, символ тощо), надане штаму мікроорганізму депозитором)*

первісно депонований в: Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України,
(*повна назва Депозитарію*)

Регстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Micrococcus roseus IMB B- 7127

Супроводжувальна документація від депозитора одержана: _____

паспорт, заключення за результатами дослідження патогенних властивостей
(*паспорт, довідка про непатогенність*)

Дата первісного депонування: 31 січня 2005 року

директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН України



Адреса: 252143, Київ-143, вул.Заболотного, 154

31 січня 2005 року

ДОДАТОК В. Результати перевірки безпечності штамів В1

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор Інституту
мікробіології і вірусології
НАН- України
В.С. Підгорський
В.С. Підгорський
20 грудня 2004 р.

ЗАКЛЮЧЕННЯ за результатами дослідження патогенних властивостей штаму *Micrococcus varians* 3-20

Штам надано для випробувань Технологічним інститутом молока та м'яса Української академії аграрних наук по угоді № 71-2004.

Перевірку патогенних властивостей штаму виконано з використанням безпорідних білих мишей вагою 18-20 г шляхом введення суспензій клітин, безклітинного фугату культуральної рідини перорально через зонд та внутрішньочеревинно в ін'єкціях. Нагляд за тваринами, які були протягом 15 діб адаптовані до умов утримання, проводили щоденно протягом 15-20 днів після ін'єкцій. Визначали:

1. Вірулентність суспензії активних клітин, отриманих при культивуванні штаму в аеробних умовах протягом 24 годин на агаризованому живильному середовищі МПА при температурі 32 ± 1 °C. Суспензію готували на стерильному фізіологічному розчині, концентрацію клітин визначали за допомогою оптичного стандарту мутності та контролювали шляхом висіву на агаризоване середовище.

2. Інфективність (інвазивність) штаму визначали шляхом дослідження взаємодії між макроорганізмом і мікроорганізмом з урахуванням можливих природних шляхів поступлення останніх в організм (per os) по спроможності клітин проникати всередину тканин органів тварин після зараження. Мишам вводили одноразово активну культуру бактерій в максимальних дозах, які не призводять до загибелі тварин. Через 20 діб після зараження проводили мікроскопічні дослідження окрашених препаратів матеріалу та висіви на живильний агар зразків тканин внутрішніх органів тварин для виявлення ретрокультур.

В період спостереження після вводу суспензії живих клітин бактерій (перорально чи внутрішньочеревинно у дозах до $2 \cdot 10^9$ клітин/мишу) всі тварини добре поїдали корм, змін з боку хутряного покрову не помічено. Була відсутня достовірна різниця в масі тіла

та температури дослідних і контрольних тварин, а також в загальному стані та поведінці. Миші були активними, фізіологічні відправлення у них не порушувались, поведінкові реакції були звичайними. Клінічних ознак токсикозу не відмічено. Однак при максимальних дозах $5 \cdot 10^9$ клітин/мишу $per os$ протягом трьох діб тварини ставали пасивними уже з першої дози, поведінкові реакції сповільнювалися, відмічалася загибель 3 із 7 тварин у перші п'ять-шість днів, причому у окремих встановлена діарея.

Мікробіологічні дослідження внутрішніх органів дослідних тварин через 15 діб після початку досліду при дозах, які не давали токсичної дії (менше $2 \cdot 10^9$), а також у дозах до $5 \cdot 10^9$ показали, що даний штаб не інфективний, не дисемінує і не розмножується в організмі теплокровних. Пероральне та внутрішньочеревинне введення суспензії живих клітин культури не спричиняло інвазії бактерій у внутрішні органи тварин та висіву ретрокультур після 15 діб.

Отримані результати свідчать про авірулентність **Micrococcus varians 3-20** для досліджених теплокровних тварин у дозах менших $2 \cdot 10^9$ клітин/мишу. Встановлені летальні дози $LD_{min \text{ в/ч}} = 5 \cdot 10^9$, підгостра $LD_{50 \text{ per os}} = 5,48 \cdot 10^9$ та кумулятивна $LD_{50 \text{ per os}} = 16,4 \cdot 10^9$ клітин/мишу (таблиця 1).

Всі миші і контрольні в тому числі, які залишились живими після закінчення 15 добового терміну спостережень, були вбиті, проведено їх розтин і дослідження внутрішніх органів. Відсутність інфекційної патології і ознак ураження дослідних тварин було підтверджено при макроскопічному вивченні внутрішніх органів. Результати розтину показали:

- - серце звичайної форми і розміру;
- - легені в об'ємі не збільшені, долі легко відокремлюються одне від одного, поверхні гладенькі, спаяк не відмічено;
- - шлунок, петлі тонкого і товстого кишечника зовні є звичайними, на розрізі малюнок слизової незмінений;
- - печінка темно-червоного кольору, нормальної консистенції, середнього кровонаповнення, не збільшена, поверхня гладенька;
- - нирки звичайних розмірів і форми, поверхні гладенькі, на розрізі чіткий малюнок коркової і мозкової речовини;
- - селезінка не збільшена, консистенція туга, на розрізі пульпа помірно повнокровна і темного кольору.

Таким чином, культура **Micrococcus varians 3-20** згідно отриманих результатів та відповідних нормативних матеріалів належить до групи авірулентних мікроорганізмів [3, 4]. По ступені небезпеки мікроорганізмів штаб належить до 3-го класу, тобто до "помірно небезпечних з сильною загальнотоксичною чи алергічною дією", підгостра $LD_{50 \text{ per os}} = 5,48 \cdot 10^9$ та кумулятивна $LD_{50 \text{ per os}} = 16,4 \cdot 10^9$ клітин/мишу [6], $LD_{min \text{ в/ч}} = 5 \cdot 10^9$.

Заключення видано для депонування культури бактерій.

Таблиця. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ВІРУЛЕНТНОСТІ
штаму *Micrococcus varians* 3-20 *

Матеріал для введення	Кіль- кість мишей	Доза		Шлях вве- дення	Курс введен- ня	Кількість мишей		
						Захво- ріло	Заги- нуло	Вижи- ло
	штук	мл	млрд. клітин		діб	штук	штук	Штук
Дослід:								
Суспензія активних 1-х добових клітин	7	0,5	0,5	в/ч	1	0	0	7
- // -	7	0,5	2,0	в/ч	1	0	0	7
- // -	7	0,5	5,0	в/ч	1	0	1	7
- // -	7	0,5	0,5	per os	3	0	0	7
- // -	7	0,5	2,0	per os	3	0	1	6
- // -	7	0,5	5,0	per os	3	2	3	4
Контроль:								
Фізіологічний Розчин	7	0,5	0	в/ч	1	0	0	7
- // -	7	0,5	0	per os	3	0	0	7

*Примітка: в/ч - внутрішньочеревинні ін'єкції, per os - введення в шлунок з допомогою зонда.

Література

- Директива 90/679 Ради Європейської економічної співдружності.
- Категорії біологічних агентів у відповідності до небезпеки та категорії контамінації. ВООЗ, Консультативний комітет небезпеки патогенів, видання 4-те, 1995.
- Методические указания по гигиенической оценке микробных средств защиты растений от насекомых и болезней на основе неспорообразующих микроорганизмов. Киев, 1982.
- Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды М., 1991.
- Положение о порядке учета, хранения, обращения, отпуска и пересылки культур бактерий, вирусов, риккетсий, грибов, простейших, микоплазм, бактериальных токсинов, ядов биологического происхождения. МЗ СССР, 1980.
- Постановка исследований для обоснования предельно-допустимых концентраций производственных штаммов микроорганизмов и на их основе готовых форм препаратов в воздухе рабочей зоны. Методические указания. М., 1983.

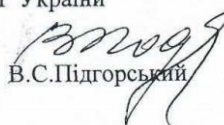
Старший науковий співробітник, к.б.н.

Інженер

20 грудня 2004 р.

Т.М. Головач
Л.І.Грома

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор Інституту
мікробіології і вірусології
НАН України


В.С.Підгорський

20 грудня 2004 р.

ЗАКЛЮЧЕННЯ

за результатами дослідження патогенних властивостей
штаму *Micrococcus roseus* 6-3

Штам надано для випробувань Технологічним інститутом молока та м'яса Української академії аграрних наук по угоді № 71-2004.

Перевірку патогенних властивостей штаму виконано з використанням безпородних білих мишей вагою 18-20 г шляхом введення суспензій клітин, безклітинного фугату культуральної рідини перорально через зонд та внутрішньочеревинно в ін'єкціях. Нагляд за тваринами, які були протягом 15 діб адаптовані до умов утримання, проводили щоденно протягом 15 днів після ін'єкцій. Визначали:

1. Вірулентність суспензії активних клітин, отриманих при культивуванні штаму в аеробних умовах протягом 24 годин на агаризованому живильному середовищі МПА при температурі 32 ± 1 °C. Суспензію готували на стерильному фізіологічному розчині, концентрацію клітин визначали за допомогою оптичного стандарту мутності та контролювали шляхом висіву на агаризоване середовище.

2. Інфективність (інвазивність) штаму визначали шляхом дослідження взаємодії між макроорганізмом і мікроорганізмом з урахуванням можливих природних шляхів поступлення останніх в організм (per os) по спроможності клітин проникати всередину тканин органів тварин після зараження. Мишам вводили одноразово активну культуру бактерій в максимальних дозах, які не призводять до загибелі тварин. Через 15 діб після зараження проводили мікроскопічні дослідження фарбованих препаратів матеріалу та висіви на живильний агар зразків тканин внутрішніх органів тварин для виявлення ретрокультур.

В період спостереження після вводу суспензії живих клітин бактерій (перорально чи внутрішньочеревинно) всі тварини були активними, добре поїдали корм, фізіологічні відправлення у них не порушувались, поведінкові реакції були звичайними, змін з боку хутряного покрову не помічено. Клінічних ознак токсикозу не відмічено. Була відсутня достовірна різниця в масі тіла та температурі дослідних і контрольних тварин, а також в загальному стані та поведінці.

Мікробіологічні дослідження внутрішніх органів дослідних тварин через 15 діб після початку дослідження показали, що даний штамп не інфективний, не дисемінує і не розмножується в організмі теплокровних. Пероральне та внутрішньочеревне введення суспензії живих клітин культури не спричиняло інвазії бактерій у внутрішні органи тварин та висіву ретрокультур.

Отримані результати свідчать про авірулентність **Micrococcus roseus 6-3** для досліджених теплокровних тварин. В межах досліджених концентрацій $0,5 \cdot 10^9$ – $5,0 \cdot 10^9$ клітин/мішу летальні дози не виявлені (LD_{50} в/ч > 5 млрд. кл., LD_{50} per os > 15 млрд. клітин/мишу). Не відмічено випадків захворювання чи загибелі мишей, які б перевищували контрольний рівень при введенні суспензії клітин бактерій (0,5 - 5,0 млрд. клітин/мишу) перорально чи внутрішньочеревно (таблиця 1).

Всі миші і контрольні в тому числі, які залишилися живими після закінчення терміну спостережень, були вбиті, проведено їх розтин і дослідження внутрішніх органів. Відсутність інфекційної патології і ознак ураження дослідних тварин було підтверджено при макроскопічному вивченні внутрішніх органів. Результати розтину показали:

- серце звичайної форми і розміру;
- легені в об'ємі не збільшені, долі легко відокремлюються одне від одного, поверхні гладенькі, спаяк не відмічено;
- шлунок, петлі тонкого і товстого кишечника зовні є звичайними, на розрізі малюнок слизової незмінений;
- печінка темно-червоного кольору, нормальної консистенції, середнього кровонаповнення, не збільшена, поверхня гладенька;
- нирки звичайних розмірів і форми, поверхні гладенькі, на розрізі чіткий малюнок коркової і мозкової речовини;
- селезінка не збільшена, консистенція туга, на розрізі пульпа помірно повнокровна і темного кольору.

Таким чином, культура **Micrococcus roseus 6-3** згідно отриманих результатів та відповідних нормативних матеріалів належить до групи авірулентних мікроорганізмів [3, 4, 6], не здатних до інвазії у внутрішні органи досліджених теплокровних тварин.

Заключення видано для депонування культури бактерій.

Таблиця 1. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ВІРУЛЕНТНОСТІ
штаму **MICROCOCOCCUS ROSEUS 6-3***

Матеріал для введення	Кіль- кість мишей	Доза		Шлях вве- дення	Курс введен- ня	Кількість мишей		
		штук	мл			Захво- ріло	Заги- нуло	Вижи- ло
			млрд. клітин		діб	штук	штук	Штук
<u>Дослід:</u>								
Суспензія активних 1-х добових клітин	10	0,5	0,5	в/ч	1	0	0	10
- // -	10	0,5	2,0	в/ч	1	0	0	10
- // -	10	0,5	5,0	в/ч	1	0	0	10
- // -	10	0,5	2,0	per os	3	0	0	10
- // -	10	0,5	5,0	per os	3	0	0	10
<u>Контроль:</u>								
Фізіологічний Розчин	10	0,5	0	в/ч	1	0	0	10
- // -	10	0,5	0	per os	3	0	0	10

*Примітка: в/ч - внутрішньочеревинні ін'єкції, per os - введення в шлунок з допомогою зонда.

Література

1. Директива 90/679 Ради Європейської економічної співдружності.
2. Категорії біологічних агентів у відповідності до небезпеки та категорії контамінації. ВООЗ, Консультативний комітет небезпеки патогенів, видання 4-те, 1995.
3. Методические указания по гигиенической оценке микробных средств защиты растений от насекомых и болезней на основе неспорообразующих микроорганизмов. Киев, 1982.
4. Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды М., 1991.
5. Положение о порядке учета, хранения, обращения, отпуска и пересылки культур бактерий, вирусов, риккетсий, грибов, простейших, микоплазм, бактериальных токсинов, ядов биологического происхождения. МЗ СССР, 1980.
6. Постановка исследований для обоснования предельно-допустимых концентраций производственных штаммов микроорганизмов и на их основе готовых форм препаратов в воздухе рабочей зоны. Методические указания. М., 1983.

Старший науковий співробітник, к.б.н.
Інженер
20 грудня 2004 р.

 Т.М. Головач
Л.І.Грома

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор Інституту мікробіології
і вірусології НАН УкраїниВ.С.Підгорський
27 січня 2012 р.

В И С Н О В О К

**щодо дослідження вірулентності штаму *Staphylococcus carnosus* 5304
на моделі білих мишей з метою депонування культури**

Штам *Staphylococcus carnosus* 5304 надано для випробувань Технологічним інститутом молока та м'яса НААН України згідно договору 114-2011 від 19.09.2011.

Штами досліджуваного роду мікроорганізмів *Staphylococcus* в Україні включено до переліку небезпечних біологічних об'єктів, які можуть інфікувати людей і тварин або бути для них токсичними чи алергічними чинниками [1]. У кожному конкретному випадку потрібно враховувати індивідуальні властивості штамів відповідного виду. Нормативні документи ЄС посилаються як на небезпечний лише на вид *Staphylococcus aureus* [2, 3]. Рівень патогенності мікроорганізму базується на встановленні у гострих та хронічних дослідів ряду токсико-гігієнічних показників: вірулентності, токсичності, токсигенності, алергенності, інфекційності, дисбіотичної дії та ін. Для проведення процедури депонування даного штаму як безпечного досліджували у гострих дослідів один із показників патогенності – вірулентність активних життєздатних клітин для теплокровних лабораторних тварин [5,8].

Перевірку вірулентних властивостей штаму виконано з використанням статевозрілих безпородних білих мишей вагою 20 ± 2 г шляхом введення суспензій клітин перорально через зонд та внутрішньочеревинно в ін'єкціях [4-8]. Тварини були адаптовані протягом 15 діб до умов утримання. Нагляд за тваринами після ін'єкцій проводили щоденно протягом 15 днів. Визначали:

1. Вірулентність суспензії активних клітин, отриманих при культивуванні штамів в аеробних умовах при температурі 30 ± 1 °C. Штам *Staphylococcus carnosus* 5304 вирощували протягом 3 діб на м'ясопептонному агарі (МПА). Суспензію клітин готували на стерильному фізіологічному розчині, концентрацію клітин визначали за допомогою оптичного стандарту мутності. Суспензію вводили перорально через зонд, внутрішньочеревинно в ін'єкціях (таблиця).

2. Інфективність (інвазивність) штаму визначали за критерієм наявності ретрокультур в органах тварин після можливих природних шляхів поступлення останніх в організм, а саме по спроможності клітин проникати всередину тканин органів тварин після перорального зараження в максимальних дозах, які не призводили до загибелі тварин.

Через 15 діб після зараження проводили висіви на живильний агар МПА зразків тканин внутрішніх органів тварин для виявлення ретрокультур та проводили мікроскопічні і макроскопічні їх дослідження.

В період спостереження після вводу суспензії живих клітин бактерій (перорально у дозах $10 \div 22,5 \cdot 10^9$ клітин/мишу чи внутрішньочеревинно у дозі $2,25 \cdot 10^9$) всі тварини були активними, добре поїдали корм, фізіологічні відправлення у них не порушувались, поведінкові реакції були звичайними, змін з боку хутряного покрову не помічено. Клінічних ознак токсикозу не відмічено. Була відсутня достовірна різниця в масі тіла дослідних і контрольних тварин, а також в загальному стані та поведінці.

Мікробіологічні дослідження внутрішніх органів дослідних тварин через 14 діб після початку досліду показали, що даний штам не інфективний, не дисемінує і не розмножується в організмі теплокровних. Пероральне та внутрішньочеревне введення суспензії живих клітин культури не спричиняло інвазії бактерій у внутрішні органи тварин – печінку, легені, нирки. Ретрокультури не виявлені.

Таблиця. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ВІРУЛЕНТНОСТІ
штаму *Staphylococcus carnosus* 5304 *

Матеріал для введення	Кіль- кість мишей	Доза		Шлях вве- дення	Курс введен- ня	Кількість мишей		
		штук	мл			Захво- ріло	Заги- нуло	Вижи- ло
			млрд. клітин		діб	штук	штук	Штук
<u>Дослід:</u>								
Суспензія 3-добових клітин	10	0,5	2,25	в/ч	1	0	0	10
- // -	10	0,5	10,0	per os	1	0	0	10
- // -	10	0,5	22,5	per os	1	0	0	10
<u>Контроль:</u>								
Фізіологічний розчин	10	0,5	0	в/ч	1	0	0	10
- // -	10	0,5	0	per os	1	0	0	10

*Примітка: в/ч - внутрішньочеревинні ін'єкції, per os - введення в шлунок з допомогою зонда.

Отримані результати свідчать про авірулентність *Staphylococcus carnosus* 5304 для досліджених теплокровних тварин ($LD_{50 \text{ в/ч}} > 2,25$ млрд. кл., $LD_{50 \text{ per os}} > 22,5$ млрд. клітин/мишу). Не відмічено випадків захворювання чи загибелі мишей, які б перевищували контрольний рівень при введенні суспензії клітин бактерій перорально чи внутрішньочеревинно у вказаних дозах (таблиця).

Всі миші у тому числі і контрольні, які залишились живими після закінчення терміну спостережень, були вбиті, проведено їх розтин і дослідження внутрішніх органів. Відсутність інфекційної патології і ознак ураження дослідних тварин було підтверджено при макроскопічному вивченні внутрішніх органів. Результати розтину показали:

- серце звичайної форми і розміру;

•- легені в об'ємі не збільшені, долі легко відокремлюються одне від одного, поверхні гладенькі, спаск не відмічено;

• - шлунок, петлі тонкого і товстого кишечника зовні є звичайними, на розрізі малюнок слизової незмінений;

• печінка темно-червоного кольору, нормальної консистенції, середнього кровонаповнення, не збільшена, поверхня гладенька;

•- нирки звичайних розмірів і форми, поверхні гладенькі, на розрізі чіткий малюнок коркової і мозкової речовини;

•- селезінка не збільшена, консистенція туга, на розрізі пульпа помірно повнокровна і темного кольору.

Таким чином, культура *Staphylococcus carnosus* 5304 згідно отриманих результатів та відповідних нормативних матеріалів належить до групи авірулентних мікроорганізмів [5, 8], не здатних до інвазії у внутрішні органи досліджених теплокровних тварин - білих безпородних мишей. По відсутності вірулентності можна віднести штам до IV класу небезпеки мікроорганізмів: "малонебезпечних, практично без алергенної та загальнотоксичної дії" [6, 7].

Дослідження проведені для депонування культури як первинна санітарно-гігієнічна оцінка штаму без вивчення рівнів токсичності, токсигенності, імунотоксичності, дисбіотичної та хронічної дії.

Література

1. Безпека роботи з мікроорганізмами I-II груп патогенності. Державні санітарні правила МОЗ України. ДСП 9.9.5.035.99
2. Директива 90/679 Ради Європейської економічної співдружності.
3. Категорії біологічних агентів у відповідності до небезпеки та категорії контамінації. ВООЗ Консультативний комітет небезпеки патогенів, видання 4-те, 1995.
4. Кожемякин Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайфетдінова Г.А. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. МОЗУ, Фармкомітет. Київ-2002 156 С
5. Методические указания по гигиенической оценке микробных средств защиты растений от насекомых и болезней на основе неспорообразующих микроорганизмов. Киев, 1982.
6. Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды М. 1991.
7. Постановка исследований для обоснования предельно-допустимых концентраций производственных штаммов микроорганизмов и на их основе готовых форм препаратов в воздухе рабочей зоны Методические указания. М., 1983.
8. Медико-біологічні дослідження виробничих штамів мікроорганізмів і токсико-гігієнічна оцінка мікробних препаратів, визначення їх безпеки та обґрунтування гігієнічних нормативів і регламентів Методичні вказівки МОЗ України. Київ, 2004.

Старший науковий співробітник, к.б.н.

Інженер




Т.М. Головач



Л.І.Грома

27 січня 2012 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ
 Директор Інституту мікробіології і
 вірусології НАН України

 В.С.Підгорський
 10 квітня 2009 р.

В И С Н О В О К

щодо дослідження вірулентності штаму *Kocuria rosea* 5401 на моделі білих мишей з метою депонування культури

Штам *Kocuria rosea* 5401 надано для випробувань Технологічним інститутом молока та м'яса Української академії аграрних наук по угоді № 90-2008.

Досліджуваний рід і вид мікроорганізмів не включено до переліку небезпечних біологічних об'єктів, які можуть інфікувати людей і тварин або бути для них токсичними чи алергічними чинниками [1, 2, 3]. Рівень патогенності мікроорганізму базується на встановленні у гострих та хронічних дослідів ряду токсико-гігієнічних показників: вірулентності, токсичності, токсигенності, алергенності, інфекційності, дисбіотичної дії та ін. Для проведення процедури депонування даного штаму як безпечного досліджували у гострих дослідів один із показників патогенності – вірулентність активних життєздатних клітин для теплокровних лабораторних тварин [5,8].

Перевірку вірулентних властивостей штаму виконано з використанням статевозрілих безпородних білих мишей вагою 20 ± 2 г шляхом введення суспензій клітин перорально через зонд та внутрішньочеревинно в ін'єкціях [4-8]. Тварини були адаптовані протягом 15 діб до умов утримання. Нагляд за тваринами після ін'єкцій проводили щоденно протягом 15 днів. Визначали:

1. Вірулентність суспензії активних клітин, отриманих при культивуванні штамів в аеробних умовах при температурі 28 ± 1 °С. Штам *Kocuria rosea* 5401 вирощували протягом 3 діб на м'ясопептонному агарі (МПА). Суспензію клітин готували на стерильному фізіологічному розчині, концентрацію клітин визначали за допомогою оптичного стандарту мутності. Суспензію вводили перорально через зонд, внутрішньочеревинно в ін'єкціях (таблиця).

2. Інфективність (інвазивність) штаму визначали за критерієм наявності ретрокультур в органах тварин після можливих природних шляхів поступлення останніх в організм, а саме по спроможності клітин проникати всередину тканин органів тварин після перорального зараження в максимальних дозах, які не призводили до загибелі тварин.

Через 15 діб після зараження проводили висіви на живильний агар МДА зразків тканин внутрішніх органів тварин для виявлення ретрокультур та проводили мікроскопічні і макроскопічні їх дослідження.

В період спостереження після вводу суспензії живих клітин бактерій (перорально у дозах від $5 \cdot 10^9$ до $10 \cdot 10^9$ клітин/мишу чи внутрішньочеревинно у дозі $1 \cdot 10^9$) всі тварини були активними, добре поїдали корм, фізіологічні відправлення у них не порушувались, поведінкові реакції були звичайними, змін з боку хутряного покрову не помічено. Клінічних ознак токсикозу не відмічено. Була відсутня достовірна різниця в масі тіла дослідних і контрольних тварин, а також в загальному стані та поведінці.

Мікробіологічні дослідження внутрішніх органів дослідних тварин через 15 діб після початку досліду показали, що даний штам не інфективний, не дисемінує і не розмножується в організмі теплокровних. Пероральне та внутрішньочеревне введення суспензії живих клітин культури не спричиняло інвазії бактерій у внутрішні органи тварин – печінку, легені, нирки. Ретрокультури не виявлені.

Таблиця. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ВІРУЛЕНТНОСТІ
штаму *Kocuria rosea* 5401*

штаму *Kocuria rosea* 3401*

Матеріал для введення	Кіль- кість мишей	Доза		Шлях вве- дення	Курс введен- ня	Кількість мишей		
		штук	мл			млрд. клітин	Захво- ріло штук	Заги- нуло штук
Дослід:								
Суспензія 3-добових клітин	7	0,5	1,0	в/ч	1	0	0	7
- // -	7	0,5	5,0	per os	1	0	0	7
- // -	7	0,5	10,0	per os	1	0	0	7
Контроль:								
Фізіологічний розчин	7	0,5	0	в/ч	1	0	0	7
- // -	7	0,5	0	per os	1	0	0	7

*Примітка: в/ч - внутрішньочеревинні ін'єкції, per os - введення в шлунок з допомогою зонда.

Отримані результати свідчать про авірулентність *Kocuria rosea* 5401 для досліджених теплокровних тварин ($LD_{50 \text{ в/ч}} > 1$ млрд. кл., $LD_{50 \text{ per os}} > 10$ млрд. клітин/мишу). Не відмічено випадків захворювання чи загибелі мишей, які б перевищували контрольний рівень при введенні суспензії клітин бактерій перорально чи внутрішньочеревинно у вказаних дозах (таблиця).

Всі миші у тому числі і контрольні, які залишились живими після закінчення терміну спостережень, були вбиті, проведено їх розтин і

дослідження внутрішніх органів. Відсутність інфекційної патології і ознак ураження дослідних тварин було підтверджено при макроскопічному вивченні внутрішніх органів. Результати розтину показали:

- серце звичайної форми і розміру;
- легені в об'ємі не збільшені, долі легко відокремлюються одне від одного, поверхні гладенькі, спаяк не відмічено;
- шлунок, петлі тонкого і товстого кишечника зовні є звичайними, на розрізі малюнок слизової незмінений;
- печінка темно-червоного кольору, нормальної консистенції, середнього кровонаповнення, не збільшена, поверхня гладенька;
- нирки звичайних розмірів і форми, поверхні гладенькі, на розрізі чіткий малюнок коркової і мозкової речовини;
- селезінка не збільшена, консистенція туга, на розрізі пульпа помірно повнокровна і темного кольору.

Таким чином, культура *Kocuria rosea* 5401 згідно отриманих результатів та відповідних нормативних матеріалів належить до групи авірулентних мікроорганізмів [5, 8], не здатних до інвазії у внутрішні органи досліджених теплокровних тварин - білих безпородних мишей. Дослідження вірулентності без вивчення токсичності, токсигенності, алергенності, дисбіотичної дії та ін. - проведені для депонування культури бактерій у Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАНУ.

Література

1. Безпека роботи з мікроорганізмами I-II груп патогенності. Державні санітарні правила МОЗ України, ДСП 9.9.5.035.99
2. Директива 90/679 Ради Європейської економічної співдружності.
3. Категорії біологічних агентів у відповідності до небезпеки та категорії контамінації. ВООЗ, Консультативний комітет небезпеки патогенів, видання 4-те, 1995.
4. Кожемякин Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайфетдінова Г.А. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. МОЗУ, Фармкомітет. Київ-2002. 156 С
5. Методические указания по гигиенической оценке микробных средств защиты растений от насекомых и болезней на основе неспорообразующих микроорганизмов. Киев, 1982.
6. Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды М., 1991.
7. Постановка исследований для обоснования предельно-допустимых концентраций производственных штаммов микроорганизмов и на их основе готовых форм препаратов в воздухе рабочей зоны. Методические указания. М., 1983.
8. Медико-біологічні дослідження виробничих штамів мікроорганізмів і токсико-гігієнічна оцінка мікробних препаратів, визначення їх безпеки та обґрунтування гігієнічних нормативів і регламентів. Методичні вказівки МОЗ України. Київ, 2004.

Старший науковий співробітник, к.б.н.
Інженер

10 квітня 2009 р



Т.М. Головач
Л.І.Грома

ДОДАТОК. Г Титульні листи нормативних документів

Г.1

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК
ІНСТИТУТ ПРОДОВОЛЬЧИХ РЕСУРСІВ

ДКПП 10.91.10-39.00

УКНД 07.100.30



ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор Інституту Продовольчих
ресурсів НААН України

М.П. Сичевський

«09» 2017 р.



ПРОБІОТИКИ «ТІММ» ДЛЯ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН ТЕХНІЧНІ УМОВИ

ТУ У 10.9-00419880-136:2017

(Уперше)

Дата надання чинності 27.11.2017р

Чинний до 27.11.2027р.

РОЗРОБЛЕНО:

Інститут продовольчих ресурсів НААН
України

Заступник директора

Л.М. Хомічак

«14» 09 2017 р.

Зав. відділом біотехнології

С.Г. Даниленко

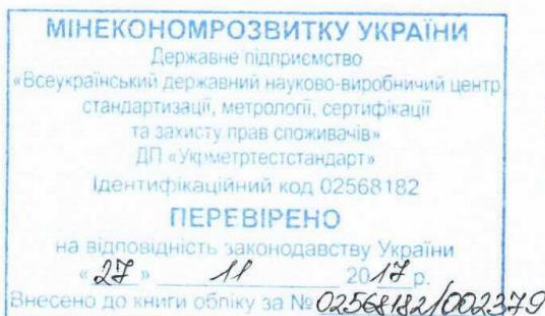
«14» 09 2017 р.

ТДВ «НДХП»

Директор

К.В. Копилов

«09» 2017 р.



Г.2

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Директор ІПР НААН

М.П. Сичевський

“ 12 ” 12 2017 р.

ТЕХНОЛОГІЧНА ІНСТРУКЦІЯ**з виробництва пробіотику «ТІММ-С» для годівлі свиней****ТУ У 10.9-00419880-136:2017**

Вперше

Чинна з 12.12.2017

РОЗРОБЛЕНО:*Інститут продовольчих ресурсів НААН*

Заступник директора з наукової роботи

Л.М. Хомічак

“ 17 ” 10 2017 р.

Зав. відділом біотехнології

С.Г.Даниленко

“ 17 ” 10 2017 р.

ТДВ «НДІХП»

Директор

К.В. Копилов

2017 р.

Г.3

ДКПП 15.51.52.521

УКНД 67.100.10

ЗАРЕЄСТРОВАНО

ПОГОДЖЕНО
Перший заступник головного
державного санітарного лікаря України

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор Технологічного інституту
молока та м'яса НААНУ

Висновок Державної санітарно-
епідеміологічної експертизи
№ 05.03.02-06/78451 від 20.10.2010 р.

Г.О.Єресько
«27» 10 2010 р.



**ПРЕПАРАТИ БАКТЕРІАЛЬНІ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА ФЕРМЕНТОВАНИХ
М'ЯСНИХ ПРОДУКТІВ
ТЕХНІЧНІ УМОВИ
ТУ У 15.5-00419880-101-2010
(Уперше)**

Дата надання чинності 04.11.2010

Чинний до 04.11.2015

РОЗРОБЛЕНО:

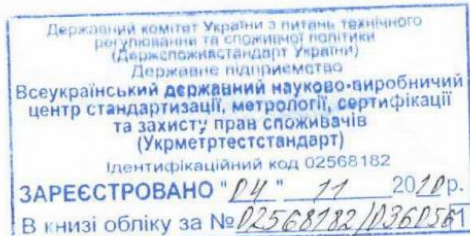
Технологічний інститут молока та м'яса НААНУ

Заступник директора

І.О.Романчук
«17» 09 2010 р.

Зав. відділом біотехнології

Н.Ф.Кігель
«17» 09 2010 р.





НАЦІОНАЛЬНИЙ СТАНДАРТ УКРАЇНИ

М'ЯСО ТА М'ЯСНІ ПРОДУКТИ

**Організація та методи мікробіологічних
досліджень**

ДСТУ 8381:2015

Видання офіційне

Київ
ДП «УкрНДНЦ»
2017

ДСТУ 8381:2015

ПЕРЕДМОВА

1 РОЗРОБЛЕНО: Інститут продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук (ІПР НААН), Національний університет біоресурсів і природокористування України

РОЗРОБНИКИ: **С. Даниленко**, канд. техн. наук; **Г. Козловська**, канд. вет. наук; **Н. Кігель**, д-р техн. наук (науковий керівник); **І. Панасюк**

2 ПРИЙНЯТО ТА НАДАНО ЧИННОСТІ: наказ ДП «УкрНДНЦ» від 21 серпня 2017 р. № 101 з 2017–07–01

3 УВЕДЕНО ВПЕРШЕ (зі скасуванням в Україні ГОСТ 21237–75)

Право власності на цей національний стандарт належить державі.
Заборонено повністю чи частково видавати, відтворювати
здля розповсюдження і розповсюджувати як офіційне видання
цей національний стандарт або його частини на будь-яких носіях інформації
без дозволу ДП «УкрНДНЦ» чи уповноваженої ним особи

ДП «УкрНДНЦ», 2017



НАЦІОНАЛЬНИЙ СТАНДАРТ УКРАЇНИ

МОЛОКО, МОЛОЧНІ ПРОДУКТИ ТА ЗАКВАСКИ

Метод визначання кількості
біфідобактерій

ДСТУ 7355:2013

Видання офіційне

БЗ № 3—6—2013/195



Київ
МІНЕКОНОМРОЗВИТКУ УКРАЇНИ
2014

ДСТУ 7355:2013

ПЕРЕДМОВА

1 РОЗРОБЛЕНО: Технологічний інститут молока та м'яса Української академії аграрних наук (ТІММ УААН), і ДП та ДНДЦ з проблем гігієни харчування МОЗ України

РОЗРОБНИКИ: **Г. Єресько**, д-р. техн. наук; **С. Даниленко**, канд. техн. наук; **Ц. Король**, канд. техн. наук; **Н. Кігель**, д-р. техн. наук (науковий керівник); **Г. Борщ**, канд. біол. наук

2 ПРИЙНЯТО ТА НАДАНО ЧИННОСТІ: наказ Міністерства економічного розвитку України від 22 серпня 2013 р. № 1010

3 УВЕДЕНО ВПЕРШЕ

Право власності на цей документ належить державі.
Відтворювати, тиражувати та розповсюджувати його повністю чи частково
на будь-яких носіях інформації без офіційного дозволу заборонено.
Стосовно врегулювання прав власності треба звертатися до Міністерства економічного розвитку України
Міністерство економічного розвитку України, 2014

Г.6



НАЦІОНАЛЬНИЙ СТАНДАРТ УКРАЇНИ

МОЛОКО ТА МОЛОЧНІ ПРОДУКТИ

Методи мікробіологічного контролювання

ДСТУ 7357:2013

Видання офіційне

БЗ № 3—6—2013/197



Київ
МІНЕКОНОМРОЗВИТКУ УКРАЇНИ
2014

ДСТУ 7357:2013

ПЕРЕДМОВА

1 РОЗРОБЛЕНО: Технологічний інститут молока та м'яса Української академії аграрних наук (ТІММ УААН)

РОЗРОБНИКИ: Г. Єресько, д-р техн. наук; С. Даниленко, канд. техн. наук; Н. Кігель, д-р техн. наук (науковий керівник)

2 ПРИЙНЯТО ТА НАДАНО ЧИННОСТІ: наказ Мінекономрозвитку України від 22 серпня 2013 р. № 1010

3 УВЕДЕНО ВПЕРШЕ (зі скасуванням в Україні ГОСТ 9225–84)

Право власності на цей документ належить державі.
Відтворювати, тиражувати та розповсюджувати його повністю чи частково
на будь-яких носіях інформації без офіційного дозволу заборонено.
Стосовно врегулювання прав власності треба звертатися до Мінекономрозвитку України

Мінекономрозвитку України, 2014

ДОДАТОК Д. Документи, що підтверджують впровадження функціональних добавок та бактеріальних препаратів на ДДПІРНААН Д.1



АКТ про вироблення пробіотику "ТІММ-С" за ТУ У 10.9-00419880-136:2017 для відгодівлі поросят

Цей акт складено стосовного того, що на ДДП ІПР НААН в період з 09 жовтня по 17 жовтня 2017 року було вироблено 1 партію пробіотику "ТІММ-С" у кількості 15 кг.

Впродовж технологічного процесу було дотримано таких режимів та параметрів.

Середовище для нагромадження бактеріальної біомаси молочнокислих бактерій та біфідобактерій складалося з гідролізованого молока, тризаміщеного лимоннокислого натрію, оцтовокислого натрію, сірчанокислого 7-водного магнію, сірчанокислого 4-водного марганцю, сірчанокислого 7-водного заліза (ІІІ), твін-80, екстракту кукурудзяного, глюкози, дріжджового екстракту, аскорбінової кислоти, лактози, ФІЗ, Три-Соль. У процесі культивування для додаткового збагачення середовища одноразово вносили розчин глюкози та лактози.

Інокулят вносили у кількості 6 % від маси середовища. Нагромадження бактеріальної маси проводили за температури $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ упродовж $(14 \pm 1,0)$ год. з періодичною нейтралізацією середовища 25 %-им водним розчином аміаку до активної кислотності $(6,4 \pm 0,1)$ од. рН з перемішуванням.

Відокремлену від культуральної рідини бактеріальну біомасу змішували у співвідношенні 1:2 зі стерильним захисним середовищем, до складу якого входили цукроза, желатин, сухе знежирене молоко.

Заморожування суспензії з бактеріальних клітин та захисного середовища здійснювали за мінус $(40 \pm 1)^\circ\text{C}$ упродовж $(16 \pm 0,5)$ год., сушили у сублимаційній сушарці впродовж 18 год. за температури на початку – мінус 25°C , наприкінці – 30°C .

Вихід сухого препарату становив $5,6 \text{ г/дм}^3$ виробничого середовища.

За мікробіологічними показниками одержаний препарат відповідав вимогам нормативної документації (ТУ У 10.9-00419880-136:2017), а саме:

- Загальна кількість молочнокислих мікроорганізмів, КУО/г - $1,8 \cdot 10^{11}$;
- Загальна кількість біфідобактерій, КУО/г $2,1 \cdot 10^{11}$;
- БГКП (коліформи), в 1 – відсутні
- Дріжджі та плісняви, в 1 г - відсутні

Від ІПР НААН:

Від ДДП ІПР НААН

Зав. відділом біотехнології
С.Г. Даниленко

Начальник виробничого відділу
В.С. Пінчук

С.н.с. відділу біотехнології
О.В. Науменко

Мікробіолог
В.В. Гудима

Д.2



ЗАТВЕРДЖУЮ
Г.Ф.Мисан
квітень 2018 р.

**АКТ
про вироблення бактеріального препарату "ЛРР" за ТУ У 15.5-00419880-101-2010
для виробництва ферментованих м'ясних продуктів**

Цей акт складено стосовного того, що на ДДП ІПР НААН в період з 12 травня до 19 травня 2018 року було вироблено 1 партію сухого бактеріального препарату "ЛРР" у кількості 5,6 кг.

Виродовж технологічного процесу було дотримано таких режимів та параметрів.

Середовище для нагромадження бактеріальної біомаси молочнокислих бактерій та стафілококів складалося з пептону, тризаміщеного лимоннокислого натрію, оцтовокислого натрію, сірчанокислого 7-водного магнію, сірчанокислого 4-водного марганцю, сірчанокислого 7-водного заліза (III), твін-80, екстракту кукурудзяного, сусла, хлористого натрію, глюкози, аскорбінової кислоти, фосфорнокислого однозаміщеного калію, фосфорнокислого двозаміщеного амонію. У процесі культивування для долаткового збагачення середовища одноразово вносили розчин глюкози.

Інокулят вносили у кількості 6 % від маси середовища. Нагромадження бактеріальної маси проводили за температури $(32 \pm 1)^\circ\text{C}$ упродовж $(13 \pm 0,5)$ год. з періодичною нейтралізацією середовища 25 %-им водним розчином аміаку до активної кислотності $(6,4 \pm 0,1)$ од. рН з перемішуванням.

Відокремлену від культуральної рідини бактеріальну біомасу змішували у співвідношенні 1:2 зі стерильним захисним середовищем, до складу якого входили цукроза, желатин, сухе знежирене молоко.

Заморожування суспензії з бактеріальних клітин та захисного середовища здійснювали за мінус $(40 \pm 1)^\circ\text{C}$ упродовж $(16 \pm 0,5)$ год., сушили у сублімаційній сушарці упродовж 18 год. за температури на початку – мінус 25°C , наприкінці – 30°C .

Вихід сухого бакконцентрату становив $5,6 \text{ г/дм}^3$ виробничого середовища. Для отримання бактеріального препарату "ЛРР" сухий концентрат нормалізували глюкозою до остаточного вмісту молочнокислих бактерій – $3,0 \cdot 10^{10}$ КУО/г та мікрококів – $1,0 \cdot 10^8$ КУО/г.

За мікробіологічними, фізико-хімічними та органолептичними показниками одержаний препарат відповідав вимогам нормативної документації (ТУ У 15.5-00419880-101-2010).

Від ІПР НААН:

Зав. відділом біотехнології
 С.Г. Даниленко

Заст. зав. відділу біотехнології
 О.В. Науменко

Від ДДП ІПР НААН

Начальник виробничого відділу
 В.С. Пінчук

Мікробіолог
 В.В. Гудима

Д.3



ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор ДДП ІПР НААН
Г.Ф.Мисан
12 листопад 2016 р.

АКТ

про вироблення бактеріального препарату "КПК" за ТУ У 15.5-00419880-101-2010 для виробництва ферментованих м'ясних продуктів

Цей акт складено стосовно того, що на ДДП ІПР НААН в період з 12 листопада до 19 листопада 2016 року було вироблено 1 партію сухого бактеріального препарату "КПК" у кількості 6,0 кг.

Впродовж технологічного процесу було дотримано таких режимів та параметрів.

Середовище для нагромадження бактеріальної біомаси молочнокислих бактерій та стафілококів складалося з пептону, тризаміщеного лимоннокислого натрію, оцтовокислого натрію, сірчанокислого 7-водного магнію, сірчанокислого 4-водного марганцю, сірчанокислого 7-водного заліза (III), твін-80, екстракту кукурудзяного, сусла, хлористого натрію, глюкози, аскорбінової кислоти, фосфорнокислого однозаміщеного калію, фосфорнокислого двоаміщеного амонію. У процесі культивування для додаткового збагачення середовища одноразово вносили розчин глюкози.

Інокулат вносили у кількості 6 % від маси середовища. Нагромадження бактеріальної маси проводили за температури $(32 \pm 1)^\circ\text{C}$ упродовж $(13 \pm 0,5)$ год. з періодичною нейтралізацією середовища 25 %-им водним розчином аміаку до активної кислотності $(6,4 \pm 0,1)$ од. рН з перемішуванням.

Відокремлену від культуральної рідини бактеріальну біомасу змішували у співвідношенні 1:2 зі стерильним захисним середовищем, до складу якого входили цукроза, желатин, сухе знежирене молоко.


Заморожування суспензії з бактеріальних клітин та захисного середовища здійснювали за мінус $(40 \pm 1)^\circ\text{C}$ упродовж $(16 \pm 0,5)$ год., сушили у сублимаційній сушарці впродовж 18 год. за температури на початку – мінус 25°C , наприкінці – 30°C .

Вихід сухого бакконцентрату становив $5,2 \text{ г/дм}^3$ виробничого середовища. Для отримання бактеріального препарату "КПК" сухий концентрат нормалізували глюкозою до остаточного вмісту молочнокислих бактерій – $3,0 \cdot 10^{10}$ КУО/г та мікрококів – $1,0 \cdot 10^8$ КУО/г.

За мікробіологічними, фізико-хімічними та органолептичними показниками одержаний препарат відповідав вимогам нормативної документації (ТУ У 15.5-00419880-101-2010).


Від ІПР НААН:

Зав. відділом біотехнології
 С.Г. Даниленко

С.н.с. відділу біотехнології
 О.В. Науменко

Від ДДП ІПР НААН

Начальник виробничого відділу
 В.С. Пінчук

Мікробіолог
 В.В. Гудима

Д.4

Державне дослідне підприємство Інституту продовольчих ресурсів
Національної академії аграрних наук України
02002, м. Київ, вул. Є.Сверстюка, 4а, тел./факс: 451-42-16

Посвідчення про якість № 4
на бактеріальний препарат ЛРР
ТУ У 15.5-00419880-101:2010

Назва	Партія №	Дата виготовлення	Молочно-кислі бактерії, КУО в 1г	Кількість мікрококу, КУО в 1г	Кількість стафілококу, КУО в 1г	Дріжджі, в 1г	Плісняви, в 1г	БГКП, в 1г	Масова частка вологості, %	Термін зберігання за температури (4±2)°C	Термін зберігання за температури мінус(18±2)°C
ЛРР	4	11.04.2018 р.	2,0·10 ¹⁰	5,5·10 ⁸	Відсутні	Відсутні	Відсутні	Відсутні	4,9	4 місяців	6 місяців

Дата видачі посвідчення 16.04.2018 р.

Головний фахівець ВТК

Науменко О.В.



ДОДАТОК Е. Патенти
Е.1



(11) **63704**(19) **UA**(51) **МПК****C12N 1/20 (2006.01)****A23L 1/31 (2006.01)****C12R 1/25 (2006.01)**(21) Номер заявки: **u 2010 04109**(22) Дата подання заявки: **08.04.2010**(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну модель: **25.10.2011**(41) Дата публікації відомостей
про заявку та номер
бюлетеня: **27.12.2010,**
Бюл. № 24(46) Дата публікації відомостей
про видачу патенту та
номер бюлетеня: **25.10.2011,**
Бюл. № 20

(72) Винахідники:

Король Цвітана
Олександрівна, UA,
Даниленко Світлана
Григорівна, UA,
Кігель Наталя Федорівна, UA

(73) Власник:

ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ІНСТИТУТ
МОЛОКА ТА М'ЯСА УААН,
вул. М. Раскової, 4-а, м. Київ,
02660, Україна, UA, UA

(54) Назва корисної моделі:

ШТАМ БАКТЕРІЙ LACTOBACILLUS PLANTARUM, ЩО ВИКОРИСТОВУЄТЬСЯ У ВИРОБНИЦТВІ
БАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ ТА ФЕРМЕНТОВАНИХ М'ЯСНИХ ПРОДУКТІВ

(57) Формула корисної моделі:

Штам бактерій *Lactobacillus plantarum* 1MB B-7121, що використовується у виробництві бактеріальних препаратів та ферментованих м'ясних продуктів.

E.2





УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **109098** (13) **C2**

(51) МПК

C12N 1/20 (2006.01)**A23K 1/165** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2014 11267	(72) Винахідник(и): Даниленко Світлана Григорівна (UA), Кігель Наталя Федорівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 16.10.2014	(73) Власник(и): ІНСТИТУТ ПРОДОВОЛЬЧИХ РЕСУРСІВ НААН, вул. М. Раскової, 4-а, м. Київ, 02660 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 10.07.2015	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: UA 13892 U, 17.04.2006 UA 54994 U, 25.11.2010
(41) Публікація відомостей про заявку: 10.03.2015, Бюл.№ 5	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.07.2015, Бюл.№ 13	

**(54) ШТАМ БАКТЕРІЙ *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS*, ЩО ВИКОРИСТОВУЄТЬСЯ У ВИРОБНИЦТВІ
ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ДОБАВОК ДЛЯ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН ТА ПТИЦІ**

(57) Реферат:

Штам *Lactobacillus rhamnosus* IMB B-7379, що використовується у виробництві функціональних добавок для сільськогосподарських тварин та птиці. Винахід належить до галузі ветеринарії та біотехнології та є штамом, що використовується для отримання лікувально-профілактичної функціональної добавки для профілактики і лікування дисбактеріозів та шлунково-кишкових захворювань сільськогосподарських тварин та птиці. Штам *Lactobacillus rhamnosus* IMB B-7379 є високотехнологічний, має виражену антагоністичну дію відносно до широкого кола патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів, має високу адгезивність до еритроцитів, є антибіотикорезистентним та стійким до жовчі і шлункового соку.

UA 109098 C2

Е.3





УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **109097** (13) **C2**

(51) МПК

C12N 1/20 (2006.01)**C12R 1/25** (2006.01)**A23L 1/31** (2006.01)**A23L 3/3571** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2014 11266	(72) Винахідник(и): Даниленко Світлана Григорівна (UA), Кігель Наталя Федорівна (UA), Король Цвітана Олександрівна (UA), Семенівська Олена Анатоліївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 16.10.2014	(73) Власник(и): ІНСТИТУТ ПРОДОВОЛЬЧИХ РЕСУРСІВ НААН, вул. М. Раскової, 4-а, м. Київ, 02660 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 10.07.2015	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: UA 74726 C2, 15.01.2006 UA 63704 U, 25.10.2011 Jose M. Lorenzo. Study of the Micrococcaceae and taphylococcaceae throughout the Manufacture of Dry-Cured Lacon (a Spanish Traditional Meat Product) Made without or with Additives / Jose M. Lorenzo, Maria C. Garcia Fontan, Maria Gomez, Sonia Fonseca // Journal of Food Research. – 2012. - Vol. 1. - №1. – p. 200-211 RU 2083665 C1, 10.07.1997
(41) Публікація відомостей про заявку: 10.03.2015, Бюл.№ 5	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.07.2015, Бюл.№ 13	

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ БАКТЕРІАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ "КПК" ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА ФЕРМЕНТОВАНИХ М'ЯСНИХ ПРОДУКТІВ

(57) Реферат:

Винахід належить до способу одержання бактеріальних препаратів для виробництва ферментованих м'ясних продуктів, який передбачає приготування поживного середовища, внесення в нього посівного матеріалу, що містить штами молочнокислих бактерій *L. casei ssp. casei* IMB B-7120, *L. casei ssp. casei* IMB B-7119, *L. plantarum* IMB B-7121, штам кокурій *Kocuria rosea* IMB B-7127, за співвідношення культур 0,5:0,5:1:1. Спосіб дозволяє одержати біологічно активний бактеріальний препарат прямого внесення з високим вмістом бактеріальних культур, який забезпечує зниження кислотності, зменшення вмісту нітриту натрію, сприяє формуванню та стабілізації червоного забарвлення м'яса, які забезпечать прискорення дозрівання м'ясних виробів та високий санітарно-епідемічний стан готової продукції.

UA 109097 C2

Е.4





УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **109078** (13) **C2**

(51) МПК

C12N 1/20 (2006.01)**A61K 35/74** (2015.01)**A23K 1/165** (2006.01)**C12R 1/225** (2006.01)**A61P 1/12** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

- (21) Номер заявки: **а 2014 03335**
 (22) Дата подання заявки: **02.04.2014**
 (24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **10.07.2015**
 (41) Публікація відомостей про заявку: **25.09.2014, Бюл.№ 18**
 (46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.07.2015, Бюл.№ 13**

- (72) Винахідник(и):
**Даниленко Світлана Григорівна (UA),
Гарда Світлана Олександрівна (UA),
Кігель Наталя Федорівна (UA)**
 (73) Власник(и):
**ІНСТИТУТ ПРОДОВОЛЬЧИХ РЕСУРСІВ
НААН,
вул. М. Раскової, 4-а, м. Київ, 02660 (UA)**
 (56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
 RU 2453594 C1, 20.06.2012
 RU 2461617 C1, 20.09.2012
 RU 2465322 C1, 20.06.2012
 WO 0053200 A1, 14.09.2000
 WO 0053201 A1, 14.09.2000
 WO 0053202 A1, 14.09.2000
 WO 9929833 A1, 17.06.1999
 RU 2490325 C2, 13.08.2013
 WO 2009130423 A2, 29.10.2009

**(54) ШТАМ БАКТЕРІЙ LACTOBACILLUS PARACASEI, ЩО ВИКОРИСТОВУЄТЬСЯ У ВИРОБНИЦТВІ
ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ДОБАВОК ДЛЯ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ ПТИЦІ**

(57) Реферат:

Винахід належить до штаму *Lactobacillus paracasei* IMB B-7458, що застосовується як функціональна добавка для профілактики і лікування дисбактеріозів та шлунково-кишкових захворювань сільськогосподарської птиці.

UA 109078 C2

E.5





УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **112353** (13) **C2**

(51) МПК

C12N 1/20 (2006.01)**C12R 1/225** (2006.01)**C12R 1/46** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2014 12500**
 (22) Дата подання заявки: **21.11.2014**
 (24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **25.08.2016**
 (41) Публікація відомостей про заявку: **27.04.2015, Бюл.№ 8**
 (46) Публікація відомостей про видачу патенту: **25.08.2016, Бюл.№ 16**

(72) Винахідник(и):
Даниленко Світлана Григорівна (UA),
Кігель Наталя Федорівна (UA),
Семенівська Олена Анатоліївна (UA)

(73) Власник(и):
ІНСТИТУТ ПРОДОВОЛЬЧИХ РЕСУРСІВ
НААН,
 вул. М. Раскової, 4-а, м. Київ, 02660 (UA)

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
 RU 2272837 C2, 27.03.2006
 UA 51006 A, 15.11.2002
 UA 74726 C2, 16.01.2006
 JP S6447339 A, 21.02.1989.
 GB 736919 A, 14.09.1955
 RU 2243999 C2, 10.01.2005
 RU 2323586 C2, 10.05.2008
 UA 33321 A, 15.02.2000
 US 4599313 A, 08.07.1986

(54) СПОСІБ КОНСЕРВУВАННЯ БІОМАСИ ЗАКВАШУВАЛЬНИХ КУЛЬТУР

(57) Реферат:

Винахід належить до біотехнології і стосується способу консервування біомаси заквашувальних культур, що передбачає змішування біомаси з захисним середовищем в два етапи: з рідкою фракцією захисного середовища - розчином 20-25 % сахарози, 1-3 % желатину і 2-5 % сухого знежиреного молока у співвідношенні 1:(2-3), та сухою фракцією - кристалічною лактозою, яку додають до отриманої суспензії у кількості 20-40 %.

UA 112353 C2

E.6





УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **113345** (13) **C2**

(51) МПК (2016.01)

A23L 13/40 (2016.01)**A23L 13/70** (2016.01)**A22C 11/00**

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2015 08055	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
(22) Дата подання заявки:	13.08.2015	RU 2313956 C1, 10.01.2008
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.01.2017	RU 2171064 C1, 27.07.2001
(41) Публікація відомостей про заявку:	10.03.2016, Бюл.№ 5	RU 2030884 C1, 20.03.1995
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.01.2017, Бюл.№ 1	UA 52937 U, 10.09.2010
(72) Винахідник(и):	Недорізанюк Ліана Павлівна (UA), Лизова Вероніка Юріївна (UA), Даниленко Світлана Григорівна (UA)	UA 84027 C2, 10.09.2008
(73) Власник(и):		UA 73429 U, 25.09.2012
		Рогов І.А., Забашта А.Г., Казюлін Г.П.
		Общая технология мяса и мясопродуктов. - М.: Колос, 2000. - С. 296-300
		Король Ц.О. Розробка бактеріального препарату для ферментованих м'ясних продуктів : Автореф. дис... канд. техн. наук / Ц.О. Король; Нац. ун-т харч. технологій. - К., 2007 (знайдено в Інтернеті 11.10.2016 < URL: http://www.disslib.org/rozrobka-bakterialnoho-preparatu-dlja-fermentovanykh-m-jasnykh-produktiv.html >)
		Юхневич К.П. Сборник рецептур мясных изделий и колбас. - С.-Петербург: "Наука" РАН, 1998. - С. 41-45

(54) СПОСІБ ВИРОБНИЦТВА СИРОКОПЧЕНИХ СУЦІЛЬНОМ'ЯЗОВИХ ПРОДУКТІВ ЗІ СВИНИНИ**(57) Реферат:**

Винахід стосується способу виробництва сирокочених суцільном'язових продуктів зі свинини, який включає підготовку м'ясної сировини, приготування розсолу, шприцювання розсоллом, що містить у своєму складі бактеріальний препарат, витримання в розсолі, підсушування, копчення та сушіння, причому до складу бактеріального препарату входять види мікроорганізмів: *Staphylococcus simulans*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, а сушіння проводять у діапазоні температур від (22±2) до (11±2) °С, відносній вологості від (92±3) до (77±3) % та швидкості руху повітря від 0,2 до 0,05 м/с.

UA 113345 C2

Е.7





УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **116253** (13) **C2**
(51) МПК**A23K 50/70** (2016.01)**A23K 10/16** (2016.01)**C12N 1/20** (2006.01)**C12R 1/01** (2006.01)**C12R 1/225** (2006.01)**C12R 1/25** (2006.01)МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

(21) Номер заявки: а 2016 01120

(22) Дата подання заявки: 10.02.2016

(24) Дата, з якої є чинними
права на винахід: 26.02.2018(41) Публікація відомостей
про заяву: 10.08.2016, Бюл.№ 15(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: 26.02.2018, Бюл.№ 4(72) Винахідник(и):
Даниленко Світлана Григорівна (UA),
Гарда Світлана Олександрівна (UA)(73) Власник(и):
ІНСТИТУТ ПРОДОВОЛЬЧИХ РЕСУРСІВ
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ
НАУК УКРАЇНИ,
вул. М. Раскової, 4-а, м. Київ, 02660 (UA)(56) Перелік документів, взятих до уваги
експертизою:
Сичевський М. П., Даниленко С. Г.
Дослідження впливу функціональної
добавки БК-Птиця на фізико-хімічні
показники м'язової тканини курчат
бройлерів // Технологический аудит и
резервы производства. – 2016. – № 4/4(30).
– С. 56-60Гарда С.О. Особливості біотехнології
комплексного лактобіфідопробіотика:
визначення впливу раціональної дози на
продуктивність курчат-бройлерів / С.О.
Гарда, С.Г. Даниленко, Т.М. Рижкова, Г.С.
Литвинов // Наукові вісті НТУУ "КПІ". – 2017.
– 3. – С. 12-18

UA 24770 A, 25.12.1998

Даниленко С. Г. Створення функціональної
добавки БК-П / Технологический аудит и
резервы производства. – 2014. – № 3/5(17).
– С. 34-36Єгоров Б.В. Спосіб підготовки препаратів
пробіотику та кормової добавки
функціонального призначення для
молодняка сільськогосподарської птиці /
Єгоров, В.Є. Браженко, А.В. Єгорова, Ю.Я.
Кузьменко, Н.О. Батієвська // Зернові
продукти і комбікорми. – 2015. – № 2 (58). –
С. 26-31

UA 51006 A, 15.11.2002

UA 109078 C2, 10.07.2015

UA 98844 C2, 25.06.2012

UA 61176 A1, 17.11.2003

Даниленко С. Г. Застосування
функціональної добавки бк-пт при
вироскуванні курчат-бройлерів / С. Г.
Даниленко, С. О. Гарда // Продовольчі
ресурси. Серія : Технічні науки. - 2015. - №4.
- С. 117-122

UA 116253 C2

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ БАКТЕРІАЛЬНОГО КОНЦЕНТРАТУ "БК-ПТИЦЯ" ДЛЯ КОРМОВИХ ПРОДУКТІВ

E.8





УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **117082** (13) **C2**

(51) МПК

C12N 15/11 (2006.01)**C12Q 1/04** (2006.01)**C12Q 1/68** (2018.01)**G01N 33/02** (2006.01)**C12R 1/23** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

- (21) Номер заявки: а 2017 08391
 (22) Дата подання заявки: 15.08.2017
 (24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 11.06.2018
 (41) Публікація відомостей про заявку: 26.02.2018, Бюл.№ 4
 (46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.06.2018, Бюл.№ 11

- (72) Винахідник(и):
 Жукова Ярослава Фрідріхівна (UA),
 Вакулєнко Микола Михайлович (UA),
 Даниленко Світлана Григорівна (UA)
- (73) Власник(и):
 ІНСТИТУТ ПРОДОВОЛЬЧИХ РЕСУРСІВ
 НААН,
 вул. Свєгена Сверстюка, 4-а, м. Київ, 02002 (UA)
- (56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
 CN 105296660 A, 03.02.2016
 CN 106319083 A, 11.01.2017
 CN 102146459 A, 10.08.2011
 KR 20040077544 A, 04.09.2004
 RU 2481402 C1, 10.05.2013
 BUFFY STAHL et al. Complete Genome Sequence of Probiotic Strain Lactobacillus acidophilus La-14. Genome Announc. 2013, Vol. 1, no. 3, P. e00376-13
 DICKSON E. M. et al. A novel species-specific PCR assay for identifying Lactobacillus fermentum. Journal of Medical Microbiology, 2005, Vol. 54, P. 299-303
 YEUNG et al. Species-specific identification of commercial probiotic strains. J. Dairy Sci., American dairy science association, 2002, Vol. 85, no. 5, P. 1039-1051
 Цветков А.С. Использование методов полимеразной цепной реакции для видовой и штаммовой дифференциации пробиотических лактобактерий. Сбор, научн. трудов "Фундамент. науки и практ." с материалами III Междун. телеконф. "Пробл. и перспект. Соврем. мед., биол. и экол.", Томск, 2010, Том 1, № 4, раздел III, С. 98-103

UA 117082 C2

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КУЛЬТУРИ LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS ЗА ДОПОМОГОЮ ПАРИ СПЕЦИФІЧНИХ ОЛІГОНУКЛЕОТИДНИХ ПРАЙМЕРІВ МЕТОДОМ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ

(57) Реферат:

ДОДАТОК Ж. Документи з визначення токсичної дії функціональних добавок

Ж.1



Визначення хронічної токсичності проводили на НВП «УКРВАК».

Токсичність функціональної добавки досліджували на білих щурах 3-4-місячного віку, масою тіла 170-180 г.

Тварин утримували в стандартних умовах Експерименти, проведені на живих хребетних, відповідали принципам Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Україна, 2001).

Хронічну токсичність функціональної добавки вивчали на 18 білих щурах масою 170-180 г. Було сформовано 3 однакові за кількістю та масою групи, по 6 тварин кожна. Вводили добавку у дозах: тваринам I групи – 0,1 см³, II групи – 0,5 см³, III група тварин була контрольною, їм вводили дистильовану воду.

З лабораторних тварин було сформовано дослідні та контрольні групи по 6 голів у кожній за принципом аналогів, що містили в стандартних клітках, годували повноцінним раціоном. Перед початком дослідів тварин витримували в карантині не менше 7 днів, ведучи за ними щоденні спостереження, слабких виключали як з дослідних, так з контрольної групи.

Для проведення досліджень використовували функціональну добавку БК-Т - це однорідна суспензія від кремового до світло-коричневого кольору, добре розчиняється у воді, легко змішується з кормом. Кількість молочнокислих бактерій складає 1·10⁹ КУО/см³, біфідобактерій – 3·10⁹ КУО/см³.

Препарат вводили у шлунок піддослідним тваринам за допомогою металевого зонду для лабораторних тварин натще, одноразово та багаторазово.

Показано, що інтенсивність росту білих щурів дослідної групи зростала у динаміці й на кінець дослідів (14 -добу) становило на 2,2-2,8 г порівняно з тваринами контрольної групи.

Вміст мікроорганізмів у фекаліях білих щурів при згодовуванні функціональної добавки БК-Т досліджували на початку дослідження, на 7 добу та 14 добу (табл. 1)

Таблиця 1

Вміст мікроорганізмів у фекаліях білих щурів за згодовування функціональної добавки

Вид мікроорганізмів	Вихідні значення	7 доба			14 доба		
		Група тварин					
		к	I	II	к	I	II
<i>Bifidobacterium ssp</i>	3,5-6,8·10 ⁶	2,87·10 ⁶	1,04·10 ⁷	5,76·10 ⁷	4,65·10 ⁶	6,35·10 ⁸	2,14·10 ⁹
<i>Lactobacillus ssp</i>	7,4-8,6·10 ⁷	7,8·10 ⁷	3,4·10 ⁸	7,77·10 ⁸	7,12·10 ⁷	2,67·10 ⁹	6,54·10 ⁹
<i>E. coli</i>	1,6-3,4·10 ⁷	2,14·10 ⁷	7,87·10 ⁶	4,45·10 ⁶	1,5·10 ⁷	2,45·10 ⁶	1,06·10 ⁶
<i>Staphylococcus ssp.</i>	3,2-5,2·10 ⁴	3,7·10 ⁴	1,09·10 ⁴	8,14·10 ³	5,78·10 ³	6,87·10 ²	9,67·10 ¹

При проведенні мікробіологічних досліджень було встановлено, що більш оптимальною дозою для функціональної добавки БК-Т є 0,5 см³ на 1 тварину, при цьому відбувається корегування мікрофлори кишківнику в сторону збільшення корисної мікрофлори і зменшення умовно-патогенної. Так на 14 добу дослідження кількість *E. coli* зменшилась майже на 14 % для першої дослідної групи та на 18 – для другої, а *Staphylococcus ssp.* – на 39-57 %.

Гематологічні показники крові білих щурів під час дослідження не відрізнялись від показників контрольної групи та відповідали фізіологічній нормі для тварин даного виду та віку (табл. 2).

Таблиця 2


Гематологічні показники у щурів з різною дозою функціональної добавки, n=6

Період дослідження	Доза функціональної добавки								
	0,1 см ³			0,5 см ³			контроль		
	Гемогл обін, г/л	Еритроцити, 10 ¹² /л	Лейкоцити, 10 ⁹ /л	Гемогл обін, г/л	Еритроцити, 10 ¹² /л	Лейкоцити, 10 ⁹ /л	Гемогл обін, г/л	Еритроцити, 10 ¹² /л	Лейкоцити, 10 ⁹ /л
Вихідні дані	117,69 ±5,12	6,03±0,12	11,14±0,47	126,26 ±2,87	5,87±0,18	11,20±0,53	122,13 ±4,32	5,92±0,14	11,45±0,56
Через 14 діб	143,14 ±4,06	6,15±0,18	13,14±0,87	148,03 ±2,87	6,31±0,21	12,15±1,11	151,12 ±2,17	6,42±0,31	11,12±1,12


Усі тварини, яких включено до експерименту, зберігали характерну поведінкову, рухливі а кількісні показники знаходились у межах фізіологічних коливань. З отриманих результатів видно, що довготривале введення функціональної добавки БК-Т не призводить до порушення реакцій організму.

Таким чином, в результаті проведеного дослідження встановлено, що введення функціональної добавки у дозі 0,5 см³ не призводить до загибелі тварин, не впливає на масові коефіцієнти внутрішніх органів, що вказує на відсутність значимої токсичної дії препарату в даній дозі, та характеризує його як практично нетоксичний (V клас токсичності).

Ветеринарний лікар

 Л.М. Руда

Ветеринарний лікар

 А.В.Солодкий

с.н.с відділу біотехнології

ІПР НААН

 С.Г. Даниленко



НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ
Institute of Veterinary Medicine of the Ukrainian Academy of Agrarian Sciences

03151, м. Київ,
 вул. Донецька, 30
 Тел/факс 245-78-05
 E-mail: vet@ivm.kiev.ua



03151, Donetsk str. 30,
 Kiev, Ukraine.
 Tel/fax 245-78-05
 E-mail: vet@ivm.kiev.ua

Лабораторія анаеробних інфекцій ім. В. Риженка

ЕКСПЕРТИЗА № 26–28 від 24.07.2017 р.

Результати проведених досліджень з визначення токсичної дії, вивчення характеру впливу пробіотиків ТІММ-Т (робоча назва БК-Т), ТІММ-С (робоча назва БК-П), ТІММ-П (робоча назва БК-Пт), на загальний стан організму тварин і стан системи крові, направлених відділом біотехнології Інституту продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук України, подані у таблиці.

Для проведення досліджень було сформовано одну контрольну групу інбредних білих мишей та дослідні групи по 10 гол. у кожній: №1 (застосований пробіотик ТІММ-Т), № 2 (застосований пробіотик ТІММ-С), № 3 (застосований пробіотик ТІММ-П) у нормальних та дозах збільшених у 10 разів. Всього у дослідях використано 70 гол. інбредних білих мишей. Тривалість експерименту складала 10 діб після перорального застосування пробіотичних препаратів.

Тварини контрольної та усіх дослідних груп упродовж терміну експерименту зберігали активність руху, апетит. Загибелі серед поголів'я білих мишей не реєстрували, що свідчило про відсутність токсичності пробіотиків та їхню безпечність, незалежно від виду препарату і застосованої дози за його прийому.

Аналіз результатів досліджень деяких гематологічних показників інбредних білих мишей, які розводять у віварії ІВМ НААН, показав певні відмінності, порівняно із даними фізіологічної норми для мишей за А. М. Смирновим (1981 р.). Зокрема, показник кількості еритроцитів у контрольній групі інбредних білих мишей, яким не застосовували препаратів, був нижчим від фізіологічної норми і складав $7,086 \pm 0,506$ Т/л. На тлі таких даних характерним було і зменшення показників кількості еритроцитів у тварин дослідної групи № 3, яким перорально застосовували пробіотик ТІММ-П за десятиразово збільшеної дози. За таких же умов встановлено збільшення вірогідно на 25,9 % ($p > 0,01$) кількості базофілів, порівняно із даними фізіологічної норми. Така ж реакція спостерігалася у мишей дослідної групи № 1 після перорального введення десятиразово збільшеної дози пробіотика ТІММ-Т та після застосування пробіотичного препарату ТІММ-С, незалежно від величини застосованої дози. Явище базофілії, ймовірно, пов'язане із фагоцитарною реакцією організму на введення чужорідного білка, яким слугували пробіотичні препарати.

Пробіотики ТІММ-Т, ТІММ-С, ТІММ-П позитивно впливали на синтез гемоглобіну. На тлі показників вмісту гемоглобіну у інбредних білих мишей контрольної групи, аналогічні показники у дослідних групах мишей № 1–№ 3, незалежно від величини застосованих доз і виду пробіотика, зростали від 12,0 % і вище, що сприяло забезпеченню стабільного гомеостазу організму тварин.

Інші гематологічні показники варіювали у межах фізіологічної норми і даних контрольної групи мишей, що свідчило про відсутність токсичної дії на організм інбредних білих мишей та супресивного впливу на стан системи крові дослідних пробіотиків ТІММ-Т, ТІММ-С, ТІММ-П.

Заключення. 1. Дослідні пробіотики ТІММ-Т (робоча назва БК-Т), ТІММ-С (робоча назва БК-П), ТІММ-П (робоча назва БК-Пт) не проявляли токсичного впливу на організм

Таблиця
Результати гематологічних досліджень інбредних білих мишей після застосування пробіотичних препаратів ТІММ-Т, ТІММ-С, ТІММ-П у нормальних і десятиразових дозах; $M \pm m$, $n=10$

№ п/п	Назва дослідного пробіотичного препарату та групи тварин	Доза пробіотики	Кількість еритроцитів, T/l (10^{12})	Вміст гемоглобіну, g/l	Загальна кількість лейкоцитів, T/l (10^9)	Лейкограма, %:						
						нейтрофіли				базофіли	еозинофіли	моноцити
						юні	молоді	палічко-ядерні	сегменто-ядерні			
Фізіологічна норма (за А. М. Смирновим, 1981 р.)			8,000–11,000	14,0–18,0	6,000–13,000	0	0	1,0–5,0	18,0–30,0	0–2,0	0–4,0	2,0–5,0
1. контрольна група (без застосування пробіотиків)		–	7,086 \pm 0,506	9,80 \pm 0,70	7,225 \pm 0,460	0	0	2,0 \pm 0,4	23,9 \pm 0,6	0,4 \pm 0,02	1,9 \pm 0,3	1,2 \pm 0,2
2. дослідна № 1 ТІММ-Т (робоча назва: БК-Т)		нормальна 3 розрахунку на живу вагу теляти 40,0 кг ($5,0 \times 10^6$ КУО/см ³) десятиразова – «» – ($5,0 \times 10^7$ КУО/см ³)	6,048 \pm 0,500	13,10 \pm 0,50	6,545 \pm 0,405	0	0	0,8 \pm 0,1	25,3 \pm 2,9	1,6 \pm 0,3	1,6 \pm 0,3	3,1 \pm 0,5
3. дослідна № 2 ТІММ-С (робоча назва: БК-П)		нормальна 3 розрахунку на 1 кг живої ваги поросяти ($4,0 \times 10^6$ КУО/см ³) десятиразова – «» – ($4,0 \times 10^7$ КУО/см ³)	6,310 \pm 0,430	12,50 \pm 0,50	6,775 \pm 0,440	0	0	2,7 \pm 0,4	19,6 \pm 0,9	2,5 \pm 0,4	2,6 \pm 0,4	2,3 \pm 0,4
4. дослідна № 3 ТІММ-П (робоча назва: БК-Пг)		нормальна 3 розрахунку на живу вагу курчати 40,0 г ($9,0 \times 10^7$ КУО/см ³) десятиразова – «» – ($9,0 \times 10^7$ КУО/см ³)	6,499 \pm 0,175	10,69 \pm 0,50	6,635 \pm 0,255	0	0	3,4 \pm 0,3	31,0 \pm 0,9	2,8 \pm 0,4	1,6 \pm 0,2	2,0 \pm 0,2
			8,201 \pm 0,510	15,18 \pm 0,90	7,330 \pm 0,350	0	0	3,1 \pm 0,6	22,6 \pm 1,7	3,0 \pm 0,4	2,6 \pm 0,6	2,3 \pm 0,4
			6,628 \pm 0,312	11,52 \pm 0,80	8,560 \pm 0,260	0	0	2,0 \pm 0,3	24,4 \pm 1,0	2,0 \pm 0,2	2,1 \pm 0,4	1,7 \pm 0,3
			5,398 \pm 0,270	13,28 \pm 0,70	7,390 \pm 0,350	0	0	2,0 \pm 0,2	22,1 \pm 0,7	2,7 \pm 0,3	1,1 \pm 0,2	1,3 \pm 0,4
												70,8 \pm 1,0

інбредних білих мишей після застосування рекомендованих «Настановою» доз та за їх десятиразового збільшення.

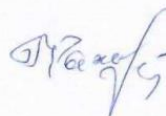
2. Виявлено позитивний вплив пробіотиків ТІММ-Т, ТІММ-С, ТІММ-П, незалежно від величини застосованих доз, на синтез гемоглобіну, рівень якого зростає у межах фізіологічної норми та сприяє забезпеченню стабільності гомеостазу організму інбредних білих мишей.

3. Виявлена незначна базofilія, пов'язана з фагоцитарною реакцією організму на введення чужорідного білка, після перорального застосування пробіотика ТІММ-С у нормальній дозі і за десятиразового її збільшення та пробіотиків ТІММ-Т, ТІММ-П за десятиразового збільшення застосованих доз.

4. Установлені варіації у межах фізіологічної норми і даних тварин контрольної групи показників загальної кількості лейкоцитів та даних лейкограми у інбредних білих мишей усіх дослідних груп, незалежно від виду застосованих пробіотиків та величини доз.

5. Пробіотики ТІММ-Т (робоча назва БК-Т), ТІММ-С (робоча назва БК-П), ТІММ-П (робоча назва БК-Пт) можна рекомендувати для застосування тваринам в умовах виробництва.

Завідуюча, канд. біол. наук, доцент



Г. Ф. Риженко

ДОДАТОК 3. Результати клінічних випробувань препаратів

3.1



АКТ

Виробничого випробування дослідної партії функціональної добавки БК-Пт (на основі лакто- та біфідобактерій), виготовленого Інститутом продовольчих ресурсів НААН.

Виробничі випробування проводили в першому кварталі 2013 року на НВП «УКРВАК».

Мета проведених досліджень полягала у встановленні раціональної дози функціональної добавки БК-Пт, яка збільшує продуктивності, збереженості курчат-бройлерів, поліпшує якість продукції і підвищує рентабельність та проведена виробнича перевірка.

Функціональна добавка БК-Пт - це комплекс мікроорганізмів різних видів молочнокислих, біфідобактерій, кишкового походження, які виділені від курей різного віку. Цей підхід дозволив сконцентрувати у бактеріальній композиції вищий біологічний потенціал порівняно із окремими штамми. БК-Т - це сипучий порошок, без сторонніх включень від кремового до світло-коричневого кольору та має масову частку вологи не більше 5%, добре розчиняється у воді, легко змішується з кормом. Кількість молочнокислих бактерій складає $1 \cdot 10^9$ КУО/см³, біфідобактерій $-3 \cdot 10^9$ КУО/см³. БК-Пт має полікомпонентний склад, який містить 4 високоактивних штамів: *Bifidobacterium pullorum*, *Lactobacillus plantarum*, *L. paracasei ssp. paracasei*, *L.rhamnosus*. Це дозволило об'єднати в одному препараті різні пробіотичні властивості (широкий спектр антагоністичної активності щодо умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів; адгезивної властивості, вітамінсинтезуюча здатність та ін.). Вказані штами - природні мікроорганізми, які не підлягали будь якій генетичній модифікації, активно синтезують різні ферменти, які сприяють покращенню травлення.

Для встановлення раціональної дози функціональної добавки БК-Пт було сформовано 4 групи з добових курчат-бройлерів кросу по 50 голів у кожній групі, подібних за живою масою і клініко-фізіологічним станом.

Основні умови утримання курчат були однакові для обох груп. Схема досвіду представлено в таблиці 1.

Таблиця 1 – Схема досвіду

Групи	Особливості годівлі
1 контрольна	Основний раціон без функціональної добавки
2 дослідна	Основний раціон + 0,5 г функціональної добавки на 1 кг комбікорму
3 дослідна	Основний раціон + 1 г функціональної добавки на 1 кг комбікорму
4 дослідна	Основний раціон + 2 г функціональної добавки на 1 кг комбікорму

Курчат-бройлерів вирощували до 38 - денного віку на підстильці.

Функціональну добавку курчатам-бройлерам застосовували за наступною схемою: Перша група була контрольною - не додавали. Курчатам другої групи (дослід) функціональну добавку додавали до складу комбікорму на підприємстві змішуючи у ручну безпосередньо перед годуванням птиці трьома курсами, а саме: 1—5 діб, з 21—25 та 31—38 добу. Вся птиця піддавалася ветеринарно-профілактичним заходам у відповідності зі схемою, прийнятої на птахофабриці.

Основні зоотехнічні показники вирощування курчат-бройлерів представлені в таблиці 2.

Таблиця.2 - Зоотехнічні показники вирощування курчат-бройлерів за 38 днів ($M \pm m$; $n = 50$)

Показники	Групи			
	1 Контрольна	2 дослідна	3 дослідна	4 дослідна
Середня жива маса добового курчати, г	40,3±0,1	40,2±0,1	40,1±0,10	40,3±0,09
Середня жива маса 1 гол., г	1975,3±22,4	2084,8±24,4	2198,4±21,6	2083,2±22,5
Середньодобовий приріст, г	51,9	54,9	57,9	54,8
Витрати корму на 1 кг приросту живої маси, кг	1,73	1,70	1,62	1,63
Збереження, %	90,0	92,0	96,0	96,0

2. Морфологічні та біохімічні показники крові.

Отримані морфологічні та біохімічні показники крові курчат-бройлерів знаходилися в межах фізіологічної норми (табл. 3).

Таблиця 3 - Морфологічні та біохімічні показники крові курчат-бройлерів (вік - 38 діб)

Показники	Групи			
	1	2	3	4
Еритроцити, $10^{12}/л$	2,61±0,02	2,73±0,02	2,85±0,01	2,93±0,03
Гемоглобін, г/л	81,0±0,36	95,32±0,49	97,44±0,25	98,21±0,36
Лейкоцити, $10^9/л$	28,26±0,33	29,25±0,27	29,47±0,27	28,49±0,36
Загальний білок, г/л	43,24±10,22	44,50±0,32	46,57±0,26	45,11±0,38
БАСК, %	41,12±0,40	45,62±0,46	46,54±0,72	45,94±1,01
ЛАСК, %	30,14±0,5	33,61±0,59	36,18±0,76	35,84±0,81

3. Якість м'яса курчат-бройлерів.

По закінченні досліду був проведений контрольний забій 5 голів курчат-бройлерів з кожної групи. Отримані результати представлені в таблиці 4

Таблиця 4 - М'ясні якості тушок

Показники	Групи			
	1	2	3	4
Передзабійна маса, г	2064±66,57	2096,4±52,75	2199,56±83,43	2185,15±70,94
Маса патраної тушки, г	1504,8±20,11	1533,0±32,29	1619,32±49,59	1606,6±33,37
Забійний вихід, %	72,9	73,2	73,6	73,5
Співвідношення їстівних частин до неїстівних	3,35	5,14	4,48	4,49

Висновок:


Застосування функціональної добавки БК-Пт до основного раціону суттєво покращує фізіологічний стан птиці, приріст маси тіла та збереженість поголів'я.

Функціональна добавка БК-Пт придатна для промислових господарств з вирощування птиці, і є екологічно безпечним та ефективним засобом для проведення лікувально-профілактичних заходів.

Ветеринарний лікар

 Л.М. Руда

Ветеринарний лікар

 А.В.Солодкий

с.н.с. відділу біотехнології
ІПР НААН

 С.Г. Даниленко

м.н.с. відділу біотехнології
ІПР НААН

 С.О. Гарда

3.2



АКТ

Виробничого випробування дослідної партії функціональної добавки БК-Пт (на основі лакто- та біфідобактерій), виготовленого Інститутом продовольчих ресурсів НААН.

Виробничі випробування проводили в другому кварталі 2013 року на НВП «УКРВАК». Для виробничої перевірки було сформовано 2 групи: контрольна і дослідна по 500 голів у кожній. Курчата дослідної групи отримували комбікорм з раціональної дозою функціональної добавки БК-Пт, виявленої в попередньому досвіді: а саме: 1—5 діб, з 21—25 та 31—38 добу.

Результати виробничої перевірки представлені в таблиці. Аналізуючи отримані в результаті виробничої перевірки дані, слід зазначити, що вони в цілому підтвердили результати попереднього дослідження. Встановлено, що при використанні функціональної добавки БК-Пт жива маса курчат-бройлерів дослідної групи підвищилася на 6,84 %. Середньодобовий приріст збільшився на 6,86 % порівняно з контролем. Збереження бройлерів дослідної групи була вищою на 3,2 % в порівнянні з контрольною. Індекс продуктивності в групі, що одержувала функціональну добавку, був вище на 37,69 одиниць.

Таблиця - Результати виробничої перевірки

Показники	Групи	
	1 контрольна	2 дослідна
Термін вирощування, доба	38	38
Прийнято на вирощування, гол	500	500
Середня жива маса 1 гол, г	2029,72±29,46	2168,6±31,87
Середньодобовий приріст, г	53,41±0,78	57,07±0,84
Витрати корму на 1 кг приросту живої маси, кг	1,84	1,76
Збереженість, %	93,7	96,9
Індекс продуктивності, од.	273,72	314,18
Вихід після забою, %	72,9	73,1
Маса після забою - всього, кг	1499,963±21,77	1585,34±23,29

Як видно з таблиці, найбільш висока передзабійна маса курчат-бройлерів була в 2-й дослідній групі (2168,6 г), що більше, ніж у контролі на 138,88 г, або 6,84%. Вихід патраної тушки у курчат контрольної групи був менший, ніж в 2-й дослідній, на 0,2 %.

Кількість грудних і ножних м'язів при оцінці м'ясної продуктивності і якості тушок птиці є найбільш важливим показником. Щодо загальної ваги м'язів кращими були показники у дослідній групі (вище контрольного на 17,9 %). Це стало результатом стимулюючої дії застосування добавки БК-Пт. Отримані результати свідчать про те, що маса їстівних частин тушки курчат-бройлерів 2 дослідної групи була більшою контрольної на 7,9 %. Маса грудних м'язів в контролі (312,7 г) менше порівняно з 2 дослідженою на 38,8 г, або 12,4 %. Маса стегнових м'язів в дослідній групі (168,9 г), більше ніж в контрольній на 7,8 г, або 4,6 %. У контрольній групі, маса м'язів гомілки менше, ніж в 1 дослідній - на 9,3 %. Співвідношення їстівних частин тушки до неїстівних в контролі з-ставляло 1,65 що менше в порівнянні з дослідною групою на 20,6 %.

Функціональна добавка БК-Пт позитивно впливає на продуктивність і збереженість поголів'я курчат-бройлерів. Встановлено, що для бройлерів доза препарату становить 1,0 кг /т комбікорму

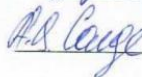
Додавання до складу комбікормів функціональної добавки БК-Пт сприяє збільшенню кінцевої живої маси птиці, знижує витрати кормів на одиницю продукції і підвищує рентабельність виробництва м'яса бройлерів.

Функціональна добавка сприяє оптимізації обмінних процесів в організмі птиці. У бройлерів дослідних груп, більш високі показники неспецифічної резистентності організму, що дозволяє підвищити збереження і продуктивності птиці.


Ветеринарний лікар

 Л.М. Руда

Ветеринарний лікар

 А.В.Солодкий

с.н.с відділу біотехнології
ІПР НААН

 С.Г. Даниленко

м.н.с відділу біотехнології
ІПР НААН

 С.О. Гарда



АКТ АПРОБАЦІЇ № 1

результатів науково-дослідної роботи 30.02.02.04.П. «Удосконалити систему нормованої годівлі свиней із урахуванням сучасних технологій годівлі та змін сировинної бази кормів» НТП 30 «Свинарство» Інноваційні технології племінного, промислового та органічного виробництва продукції свинарства. Підпрограма 2. Розробити інноваційні технології виробництва високоякісної свинини для підприємств різної потужності та форм господарювання.

Ми, що нижче підписалися, члени комісії: Радченко В.М., Лопеха В.А., Троценко З.Г., Зінов'єв С.Г., Біндог О.А., Семенов С.О., Семенов Є.С., даним актом посвідчуємо, що в рамках НДР «Розробити методи кормової корекції продуктивності сучасних генотипів свиней з використанням натуральних біостимуляторів та імунокоректорів» в ДП «Дослідне господарство «СТЕПНЕ» в період з 20 жовтня по 04 листопада 2017 р. були проведені дослідження ефективності пробіотику ТІММ-С (робоча назва «БК-П») на поголів'ї свиноматок та поросят у умовах виробництва за нижче вказаною схемою.

Для дослідів було сформовано дві групи (по 12 голів кожної) свиноматок великої білої породи.

Пробіотик задавали свиноматкам по групах:

- дослідна (до опоросу за 4 тижні по 600 грам пробіотику на 1 тону комбікорма) та після опоросу протягом 7-10 днів по 600 грам пробіотику на 1 тону комбікорма;
- контрольна (без пробіотику).

Пробіотик задавали поросяткам по групах:

- 1 група (1-35 денні поросята) – шляхом випоювання з розрахунку 0,1 г сухого пробіотику на голову, один раз на добу, протягом 30 днів;
- 2 група (1-35 денні поросята) – контрольна (без пробіотику);

При відлученні для локалізації стресу задавали сухий пробіотик по 0,3 грами впродовж 5-10 днів (3,0 см³ рідкого пробіотика) на голову.

- 3 група (поросята на відгодівлі до 10-15 кг ваги) – задавали препарат, змішаний з кормом, з розрахунку 600 грам на 1 тону комбікорма;
- 4 група (поросята на відгодівлі до 10-15 кг ваги) – контрольна (без пробіотику).

Тварини 1-2 груп знаходились біля свиноматок гніздами по 10 голів, в станках, попередньо очищених, продезінфікованих. Поросята 3 та 4 груп знаходились у групових станках по 30 голів. Годівля поросят дослідних та контрольних груп проводилась однаковими кормами.

Профілактичну ефективність пробіотику ТІММ-С визначали за відсутністю тварин з ознаками шлунко-кишкових захворювань.

Перед випробуваннями тварини 1-ї дослідної та 2-гої контрольної груп були без симптомів шлунково-кишкових розладів, тому препарат 1-й групі задавали з профілактичною метою.

В 1-й дослідній групі за весь термін дослідження фізіологічний стан тварин залишався у нормі, тоді як в 2-й контрольній групі в 15-20 % поголів'я тварин періодично виникали ознаки шлунково-кишкових розладів.








На початку проведення досліду у тварин 3-ї дослідної та 4-ї контрольної групи у окремих тварин спостерігалися такі симптоми: тварини пригнічені, t° тіла в межах норми, послаблений апетит (іноді відмова від корму), в окремих випадках ознаки діареї.

Після застосування функціональної добавки в 3-тій групі зникли всі симптоми захворювання (тварини активні, нормалізувався апетит, t° тіла в межах норми, симптоми діареї зникли). В 4-й контрольній групі протягом всього періоду випробування не спостерігали істотних змін у фізіологічному стані тварин, іноді відмічалися ознаки пригнічення та в окремих випадках діареї.

Встановлено, що застосування пробіотику ТІММ-С сприяло покращенню збереженості поросят на 0,83 голови, або 3,03 % порівняно з контрольною групою. Виявлено позитивний вплив пробіотику на стан шлункового мікробіоценозу, а саме, зменшення популяції умовно патогенних мікроорганізмів та зростання кількості лакто-та біфідобактерій.

Новизна результатів науково дослідних робіт: вперше для свинарства в Україні.

Висновок: застосування пробіотику ТІММ-С до основного раціону свиноматок та поросят різного віку покращує фізіологічний стан, приріст маси тіла та збереженість поголів'я.

	Члени комісії:
	Радченко В.М.
	Лопоха В.А.
	Троценко З.Г.
	Зінов'єв С.Г.
	Біндог О.А.
	Семенов С.О.
	Семенов С.С.

Поштова адреса: Інститут свинарства і АПВ НААН, вул. Шведська Могила, 1, м. Полтава, 36013

3.4



АКТ

В період з 10 лютого по 12 березня 2013 р.були проведені клінічні дослідження лікувальної та профілактичної ефективності функціональної добавки БК-П на поголів'ї свиней в умовах виробництва за нижче вказаною схемою.

Для досліді було сформовано чотири групи (по 80 голів кожної) свиней породи велика біла та ландрас.

Функціональну добавку задавали поросяткам по групах:

- 1 група (1-35 денні поросята) – шляхом випоювання з розрахунку 0,2 г на 1 кг маси тіла, один раз на добу, протягом 3 днів;
- 2 група (1-35 денні поросята) – контрольна (без функціональної добавки);
- 3 група (35-60 денні поросята) – задавали препарат, змішаний з кормом, з розрахунку 2 г на 10 кг маси тіла протягом 5 днів;
- 4 група (35-60 денні поросята) – контрольна (без функціональної добавки)

Функціональна добавка БК-П- це комплекс мікроорганізмів різних видів молочнокислих, біфідобактерій кишкового походження, які виділені від клінічно здорових поросят 30- 50 денного віку. Застосування композиції мікроорганізмів має істотну перевагу за проявом функціональної активності на організм тварин, порівняно з монокультурами. БК-П - це однорідний сухий порошок від кремового до світло-коричневого кольору, добре розчиняється у воді, легко змішується з кормом. Кількість молочнокислих бактерій складає $1 \cdot 10^9$ КУО/см³, біфідобактерій $-3 \cdot 10^9$ КУО/см³. БК-П має полікомпонентний склад, який містить 4 високоактивних штамі: *Bifidobacterium infantis*, *B. suis*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*. Це дозволило об'єднати в одному препараті різні пробіотичні властивості (високу колонізаційну резистентність, широкий спектр антагоністичної активності щодо умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів, вітамінсинтезуючу здатність та ін.). Указані штами - природні мікроорганізми, які не підлягали будь якій генетичній модифікації, активно синтезують різні ферменти, які сприяють покращенню травлення.

Контрольні групи функціональну добавку не отримували. Тварини 1-2 груп знаходились біля свиноматок гніздами по 10 голів, в станках, попередньо очищених, продезінфікованих та побілених вапном. Поросята 3 та 4 груп знаходились у групових станках по 30 голів. Годівля поросят дослідних та контрольних груп проводилась однаковими кормами.

Профілактичну ефективність функціональної добавки БК-П визначали за відсутністю тварин з ознаками шлунко-кишкових захворювань.

Перед випробовуваннями тварини 1-ї дослідної та 2-гої контрольної груп були без симптомів шлунково-кишкових розладів, тому препарат 1-й групі задавали з профілактичною метою.

В 1-й дослідній групі за весь термін дослідження фізіологічний стан тварин залишався у нормі, тоді як в 2-й контрольній групі в 10-15 % поголів'я тварин періодично виникали ознаки шлунково-кишкових розладів.

Кров для дослідження відбирали із зовнішньої порожнистої вени на першу, п'ятнадцяту і тридцяту добу експерименту. В пробах крові визначали кількість еритроцитів, лейкоцитів підрахунком у камері Горяєва; вміст гемоглобіну – гемінлобінціанідним методом

На початку проведення досліді у тварин 3-ї дослідної та 4-ї контрольної групи у окремих тварин спостерігалися такі симптоми: тварини пригнічені, t° тіла в межах норми, послаблений апетит (іноді відмова від корму), в окремих випадках ознаки діареї.

Після застосування функціональної добавки в 3-тій групі зникли всі симптоми захворювання (тварини активні, нормалізувався апетит, t° тіла в межах норми, симптоми діареї зникли). Спостереження, проведені за тваринами обох груп показали, що поросята 3-

тій дослідній групі були активнішими, мали гладеньку, блискучу щетину, шкіру рожевого кольору. Тварини активно споживали корм. В 4-й контрольній групі протягом всього періоду випробовування не спостерігали істотних змін у фізіологічному стані тварин, іноді відмічалися ознаки пригнічення та в окремих випадках діареї.

В період дослідження спостерігали збільшення середньодобових приростів живої маси, що свідчить про ефективність застосування функціональної добавки (табл.1).

Таблиця 1

Динаміка живої маси поросят, $M \pm m$, $n=10$

Група поросят	Середня жива маса на початку досліджу, кг	Середня жива маса на кінець досліджу, кг	Приріст живої маси за період досліджу, * кг
3-тя	$6,12 \pm 0,56$	$22,3 \pm 0,99$	$16,18 \pm 0,57$
4-та	$6,21 \pm 0,34$	$19,6 \pm 0,54$	$13,39 \pm 0,64$

Так середня маса тіла одного поросяти на початку дослідження у 3-тій дослідній та 4-тій контрольній групах становила відповідно $6,12 \pm 0,56$ кг та $6,21 \pm 0,34$, а на кінець досліджу - $22,3 \pm 0,99$ кг та $19,6 \pm 0,54$ кг.

Для всіх груп не спостерігали втрат поголів'я.

Висновок:

Застосування функціональної добавки БК-П до основного раціону суттєво покращує фізіологічний стан поросят, приріст маси тіла та збереженість поголів'я.

Функціональна добавка БК-П придатна для промислових господарств з вирощування свиней, і є екологічно безпечним та ефективним засобом для проведення лікувально-профілактичних заходів.

Головний спеціаліст господарства



Р.П. Мироненко

с.н.с. відділу біотехнології ІПР НААН



С.Г. Даниленко



Затверджую

Керівник ФГ «Вітас іК»

Кузьменко В.І

2014

АКТ

Виробничі випробовування проводили в другому кварталі 2014 року в ФГ «Вітас іК»

Функціональна добавка БК-Т- це комплекс мікроорганізмів різних видів молочнокислих, біфідобактерій, кишкового походження, які виділені від клінічно здорових телят 1-2 місячного віку. Цей підхід дозволив сконцентрувати у бактеріальній композиції вищий біологічний потенціал порівняно із окремими штамами. БК-Т - це однорідна суспензія від кремового до світло-коричневого кольору, добре розчиняється у воді, легко змішується з кормом. Кількість молочнокислих бактерій складає $1 \cdot 10^9$ КУО/см³, біфідобактерій $-3 \cdot 10^9$ КУО/см³. До складу функціональної добавки БК-Т залучено 4 високоактивні штами мікроорганізмів видів: *Bifidobacterium infantis*, *B. animalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. paracasei ssp. paracasei*.

Функціональна добавка №2, є сумішшю ліофільно висушених культур (*B. bifidum*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Acetobacter aceti*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Streptococcus thermophilus* та *L. acidophilus*). В 1 г препарату міститься: молочнокислих мікроорганізмів - $2 \cdot 10^9$ КУО, біфідобактерій - $1 \cdot 10^9$ КУО, пропіоновокислих бактерій $-3 \cdot 10^8$ КУО, оцтовокислих бактерій - 10^5 КУО.

В фермерському господарстві «Вітас» і К з метою профілактики шлунково-кишкових захворювань новонародженим телятам задавали по групам:

- 1 група (24 телят) – випоюванням функціональною добавкою БК-Т з розрахунку 100-150 см³ після першого випоювання молозива;
- 2 група (18 телят) - випоюванням функціональною добавкою №2 з розрахунку 100-150 см³ після першого випоювання молозива;
- 3 група (10 телят) – контрольна, без функціональної добавки.

Результати застосування функціональних добавок представлені в табл.

Таблиця

Група	Кількість телят, голів	З них			
		проносило		вижило	
		голів	%	голів	%
I дослідна	24	2	8	24	100
II дослідна	18	4	22	17	100
контрольна	10	6	60	10	100
всього	52				

При лікуванні ШКХ з використанням функціональної добавки БК-Т термін одужання тварин становив 2-3 доби, а збереженість тварин 100 %. При

лікуванні тварин контрольних груп, яким задавали антибіотики, термін лікування становив 4-7 діб, збереженість – 100 %.

Для профілактики шлунково-кишкових хвороб функціональну добавку БК-Т та функціональну добавку №2 згодовували телятам з першого дня їх життя. Встановлено, що при застосуванні функціональної добавки БК-Т лише у 8 % телят, при застосуванні функціональної добавки №2 – 22 % відмічено симптоми ШКХ, тоді як у контрольній групі клінічні симптоми ШКХ відмічені у 60 % тварин. тоді як а 3 % тварин загинули.

У групах телят, яким вводили функціональні добавки з метою підвищення ефективності засвоєння корму та стимуляції росту, відмічено істотне підвищення апетиту. Застосування препаратів в період адаптації тварин до нових умов утримання та різних стресових ситуацій призводило до скорочення терміну адаптації, запобігало захворюваності, сприяло підвищенню їх продуктивності.

Отримані результати свідчать про профілактичну ефективність застосування функціональних добавок новонародженим телятам у перші дні після народження. Порівняно з контролем в дослідних групах шлунково-кишкові захворювання телят виникали в декілька разів рідше. Якщо вони і проявлялись, то їх перебіг був значно легшим і тварини швидше виліковувались. У контрольній групі у більшості телят спостерігали розлади діяльності шлунково-кишкового тракту, які протікали важче, трудніше виліковувались, і в 20 % випадків закінчувались летально.

Встановлено, що застосовується чим раніше після народження телят функціональна добавка, тим вищою є профілактична ефективність його була вищою. Водночас вищою ефективністю характеризувалася функціональна добавки БП-Т порівняно з функціональною добавкою № 2.

Висновки

1. Функціональна добавка БК-Т на основі 4 високоактивних штамів: *B. infantis*, *B. animalis*, *L. acidophilus*, *L. paracasei*ssp. *paracasei*, виділених з кишківника здорових телят, характеризується профілактичним ефектом при шлунково-кишкових захворюваннях у новонароджених телят.

2. Функціональну добавку БК-Т доцільно застосовувати новонародженим телятам в перший день після народження як лікувально-профілактичний засіб проти розладів шлунково-кишкового тракту.

Головний лікар ветеринарної медицини
господарства _____

с.н.с відділу біотехнології
ІПР НААН

С.Г. Даниленко

3.6

Затверджую
 Начальник свиногомплексу
 «Мар'янівський»
 Недзельський Б.В.
 2013



АКТ

Свиногомплекс «Мар'янівський», с. Мар'янівка, Лисянського р-ну.
 Черкаської обл.

Нами, що нижче підписалися, ветлікар свиногомплексу – Діденко Н.В.; представник лабораторії біотехнології бактеріальних препаратів Інституту ветеринарної медицини НААН: провідний науковий співробітник, кандидат ветеринарних наук – Сапейко В.П.; представник відділу біотехнології Інституту продовольчих ресурсів: старший науковий співробітник, кандидат технічних наук – Даниленко С.Г., в період з 8 вересня по 10 жовтня були проведені клінічні дослідження лікувальної та профілактичної ефективності функціональної добавки БК-П на поголів'ї свиней в умовах виробництва за нижче вказаною схемою.

Функціональна добавка БК-П - це комплекс мікроорганізмів різних видів молочнокислих, біфідобактерій кишкового походження, які виділені від клінічно здорових поросят 30- 50 денного віку. Застосування композиції мікроорганізмів має істотну перевагу за проявом функціональної активності на організм тварин, порівняно з монокультурами. БК-П - це однорідний сухий порошок від кремового до світло-коричневого кольору, добре розчиняється у воді, легко змішується з кормом. Кількість молочнокислих бактерій складає $1 \cdot 10^{10}$ КУО/см³, біфідобактерій $-1 \cdot 10^{10}$ КУО/см³. БК-П має полікомпонентний склад, який містить 4 високоактивних штамів: *Bifidobacterium infantis*, *B. suis*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*. Це дозволило об'єднати в одному препараті різні пробіотичні властивості (високу колонізаційну резистентність, широкий спектр антагоністичної активності щодо умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів, вітамінсинтезуючу здатність та ін.). Указані штами - природні мікроорганізми, які не підлягали будь якій генетичній модифікації, активно синтезують різні ферменти, які сприяють покращенню травлення.

Для досліду було сформовано чотири групи (по 60 голів кожної) свиней породи велика біла та ландрас.

Функціональну добавку задавали поросяткам по групах:

- 1 група (1-35 денні поросята) – шляхом випоювання з розрахунку 0,2г на 1 кг маси тіла, один раз на добу, протягом 3 днів;
- 2 група (1-35 денні поросята) – контрольна (без функціональної добавки);
- 3 група (35-60 денні поросята) – задавали препарат, змішаний з кормом, з розрахунку 2 г на 10 кг маси тіла протягом 5 днів;
- 4 група (35-60 денні поросята) – контрольна (без функціональної добавки);

Контрольні групи функціональну добавку не отримували. Тварини 1-2 груп знаходились біля свиноматок гніздами по 10 голів, в станках, попередньо очищених, продезінфікованих та побілених вапном. Поросята 3 та 4 груп знаходились у групових станках по 30 голів. Годівля поросят дослідних та контрольних груп проводилась однаковими кормами.

Профілактичну ефективність функціональної добавки БК-П визначали за відсутністю тварин з ознаками шлунко-кишкових захворювань.

Перед випробовуваннями тварини 1-ї дослідної та 2-гої контрольної груп були без симптомів шлунково-кишкових розладів, тому препарат 1-й групі задавали з профілактичною метою.

В 1-й дослідній групі за весь термін дослідження фізіологічний стан тварин залишався у нормі, тоді як в 2-й контрольній групі в 10-15 % поголів'я тварин періодично виникали ознаки шлунково-кишкових розладів.

Кров для дослідження відбирали із зовнішньої порожнистої вени на першу, п'ятнадцяту і тридцяту добу експерименту. В пробах крові визначали кількість еритроцитів, лейкоцитів підрахунком у камері Горяєва; вміст гемоглобіну – гемінлобінціанідним методом

На початку проведення досліду у тварин 3-ї дослідної та 4-ї контрольної групи у окремих тварин спостерігалися такі симптоми: тварини пригнічені, t° тіла в межах норми, послаблений апетит (іноді відмова від корму), в окремих випадках ознаки діареї.

Після застосування функціональної добавки в 3-тій групі зникли всі симптоми захворювання (тварини активні, нормалізувався апетит, t° тіла в межах норми, симптоми діареї зникли). Спостереження, проведені за тваринами обох груп показали, що поросята 3-тньої дослідної групи були активнішими, мали гладеньку, блискучу щетину, шкіру рожевого кольору. Тварини активно споживали корм. В 4-й контрольній групі протягом всього періоду випробовування не спостерігали істотних змін у фізіологічному стані тварин, іноді відмічалися ознаки пригнічення та в окремих випадках діареї.

Таблиця 1

Гематологічні показники поросят

Показник	Група поросят					
	1 доба		15 доба досліду		30 доба досліду	
	3-тя	4-та	3-тя	4-та	3-тя	4-та
Лейкоцити $\cdot 10^9/\text{л}$	13,33	13,94	13,81	14,12	14,43	14,29
Еритроцити $\cdot 10^{12}/\text{л}$	6,77	6,74	6,81	6,92	7,32	6,97
Гемоглобін, г/л	74,45	69,32	82,34	79,14	93,56	84,67
Загальний білок, г/л	71,0	78,0	72,0	74,0	78,0	84,0

Про інтенсивність обміну азоту в організмі судили за концентрацією загального білку крові. Встановлено, що чим нижче концентрація білку в крові, тим краще його використання на утворення продукції. Концентрація загального білку крові в 3-тій дослідній групі нижче, ніж у 4-тій контрольній (табл.1). Це дозволяє свідчити про стимуляцію кровотворної функції.

Водночас спостерігали збільшення середньодобових приростів живої маси, що свідчить про ефективність застосування функціональної добавки (табл. 2).

Таблиця 2

Динаміка живої маси поросят, $M \pm m$, $n=10$

Група поросят	Середня жива маса на початку дослідку, кг	Середня жива маса на кінець дослідку, кг	Приріст живої маси за період дослідку, кг
3-тя	$6,85 \pm 0,34$	$26,5 \pm 0,21$	$19,65 \pm 0,31$
4-тя	$6,6 \pm 0,25$	$22,4 \pm 0,43$	$15,8 \pm 0,24$

Так середня маса тіла одного поросяти на початку дослідження у 3-тій дослідній та 4-тій контрольній групах становила відповідно $6,85 \pm 0,34$ кг та $6,6 \pm 0,25$, а на кінець дослідку - $26,5 \pm 0,21$ кг та $22,4 \pm 0,43$ кг.

Для всіх груп не спостерігали втрат поголів'я.

Висновок:

Застосування функціональної добавки БК-П до основного раціону суттєво покращує фізіологічний стан поросят, приріст маси тіла та збереженість поголів'я.

Функціональна добавка БК-П придатна для промислових господарств з вирощування свиней, і є екологічно безпечним та ефективним засобом для проведення лікувально-профілактичних заходів.

Підписи:

Діденко Н.В.

Сапейко В.П.

Даниленко С.Г.

ДОДАТОК К. Документи, що підтверджують впровадження бактеріальних препаратів

К.1

ЗАТВЕРДЖУЮ



Л.М.Хомічак

» листопад 2016 р.

ПРОТОКОЛ

проведення дегустації зразків сиров'ялених баликів із свинини, які виготовлені у кліматичній камері інституту

м. Київ

листопад 2016 р.

Присутні:

Даниленко С.Г.	– зав. відділом біотехнології
Кігель Н.Ф.	– гол.н.с. відділу біотехнології
Науменко О.В.	– с.н.с. відділу біотехнології
Потемська О.І.	– н.с. відділу біотехнології
Жукова Я.Ф.	– зав. відділу аналітичних досліджень та якості харчової продукції
Войцехівська Л.У.	– зав. відділ технології м'ясних продуктів

До дегустації були представлені по 2 зразки сиров'ялених продуктів із свинини, виготовлені за рецептурою на балик "Дарницький". Два дослідних варіанти із використанням заквашувальної бактеріальної композиції "КПК" (№ 1 – дослід) та контрольний варіант (№ 2 – контроль). Всі зразки дозрівали у кліматичній камері інституту.

Органолептична оцінка продукту проводилась за таким оцінюванням: відмінний – 5, добрий – 4, задовільний – 3, поганий – 2, дуже поганий – 1.

Результати органолептичної оцінки представлені в таблиці.

Таблиця. Оцінка сиров'ялених виробів за органолептичними показниками

№ п/п	Органолептичні показники	Сиров'ялені цілюном'язеві продукти	
		№ 1	№ 2
1	Зовнішній вигляд	4,4	3,8
2	Колір на розрізі	4,7	4,0
3	Запах та аромат	5,0	4,4
4	Смак	4,8	4,0
5	Консистенція	4,5	3,8
6	Загальна оцінка продукту	4,7	4,0

Відповідно до ГОСТ 9959-91 дослідний зразок балику було оцінено вищим ґатунком.

Члени дегустаційної комісії:

	Даниленко С.Г.
	Кігель Н.Ф.
	Науменко О.В.
	Потемська О.І.
	Жукова Я.Ф.
	Войцехівська Л.У.

К.2



ЗАТВЕРДЖЕНО

Директор

ВКФ «Укрпромпостач-95» ЛТД

«20.06»  2017 р.

АКТ
проведення дослідно-промислової виробки
зразків варено-копчених ковбас

В промислових умовах виготовлено дослідні зразки варено-копчених ковбас з використанням бактеріальних препаратів:

- «ЛРР», «Лакмік» - виробництво Україна (ІПР НААН);
- «Lyosani VN1-78» - виробництво Німеччина (ТОВ «Фудсервіс ДВ»);
- «B-LC-78» - виробництво Данія (ТОВ «Хр. Хансен Україна»).

Всі дослідні зразки відповідали вимогам нормативної документації на варено-копчені ковбаси.

Головний технолог
Зав. лабораторії

О.С. Джетере
В.М. Якименко